

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DROGAS ELECTROTRANSFERIDAS SOBRE  
MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA MÉDICA

POR

QBP. OMAR HEREDIA RODRÍGUEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

JUNIO, 2017

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO**



**TESIS**

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DROGAS ELECTROTRANSFERIDAS  
SOBRE MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA MÉDICA**

**POR**

**QBP. OMAR HEREDIA RODRÍGUEZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA**

**JUNIO, 2017**

**Actividad biológica de drogas electrotransferidas sobre microorganismos de  
importancia médica**

**Comité de Tesis**

---

**Dra. María Porfiria Barrón González**  
Director

---

**Dr. Eduardo Sánchez García**  
Secretario

---

**Dra. Licet Villarreal Treviño**  
Vocal

---

**Dra. Zinnia Judith Molina Garza**  
Vocal

---

**Dr Jose Alberto Valadez Lira**  
Vocal

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, a Dios por el regalo de la vida, por ayudarme y guiarme en este camino, en este ciclo de Maestría, me dio fuerzas para poder culminar este ciclo el cual me sirve y me ayuda mucho en mi formación profesional para un futuro. Gracias a Dios por concederme otro bebe que estamos esperando el cual se está formando en el vientre, estoy eternamente agradecido con Él por eso.

A mi familia, mi esposa Aby y mi hijo Ángel quienes son lo más importante para mí, son lo mejor que pudo haber llegado a mi vida, agradezco mucho por su gran apoyo y comprensión, fueron mi motivación en este proyecto, cuando yo estaba estresado, cansado, preocupado o triste ellos me animaron en todo momento, me ponían feliz, me animaban y me apoyaban en todo momento para seguir adelante. Son mi motivo, mi razón. Los amo. Gracias a mi esposa por su gran ayuda y comprensión y gracias a mi hijo Ángel que siempre me saca sonrisas con sus cosas, ocurrencias y travesuras.

A mis padres Antonio y Laura y a mi hermana Laura quienes son muy importantes en mi vida y no me pueden faltar, que también no pararon de apoyarme en todo momento brindándome mucha ayuda. Gracias a mis padres por sus consejos sabios en situaciones difíciles. Por su apoyo en mi superación personal y formación académica profesional.

Agradezco también a mis tíos y primos por parte de mi madre y por parte de mi padre, porque ellos quienes son mi familia, y la familia es lo más importante para mí, también han estado conmigo en todo momento apoyándome, brindándome ayuda, aconsejándome, dándome alegrías con sus bromas y brindándome apoyo.

Gracias a mis tíos García Heredia y a mis primos, Alam, Aldo y Alexis, son geniales, son súper buena onda, y también me han apoyado en este camino, también gracias por alegrarme con sus bromas y comentarios chistosos. Alam , Aldo y Alexis, ya que van empezando a forjar su futuro en su carrera profesional, les deseo lo mejor en su formación académica profesional, prosperidad, salud y demás, quiero que sepan que tienen todo mi apoyo y pueden contar conmigo en todo momento, que Alam pueda ser un grande y brillante Q.B.P. y Doctor que estoy seguro que así será, y que Aldo y Alexis

puedan ser también muy brillantes y profesionales, muy dedicados y unos Doctorazos ¡ que también estoy seguro que así será.

A la Dra. María Porfiria Barrón González, directora y asesora de este trabajo, por brindarme la oportunidad de entrar a su laboratorio y brindarme este proyecto de investigación el cual es mucho de mi agrado. Gracias por su paciencia, comprensión, su gran apoyo, sus sabios consejos y ayuda, su enseñanza y por todas las nuevas cosas que aprendí con ella.

A la familia de mi esposa, mi suegra Marianela Ramos, Jonathan, Sarahí, Elías, Alfredo, Angela, mi suegro Don Mike Q.E.P.D., por ser una parte muy importante en mi vida y en este camino de mi Maestría, por su apoyo y comprensión.

A la Dra. Licet Villareal Treviño por su buena disposición siempre. Por brindarme apoyo y ayuda en este camino también, por ser accesible conmigo y atenderme en caso de dudas u otros asuntos como prestarme Libros de Microbiología y material necesario.

Al Dr. Eduardo Sánchez por su gran disposición también siempre de saludarme, de ayudarme de apoyarme en caso de que hubiera algún detalle en el transcurso del proyecto, su guía, su consejo, su retroalimentación para conmigo y mi proyecto.

A la Dra. Zinnia Judith Molina Por su gran disposición también, por guiarme y brindarme su valiosa ayuda en este trabajo, por compartir conmigo e ilustrarme de su gran conocimiento y experiencia científica.

Al Dr. José Alberto Valadez Lira por su gran disposición de brindarme ayuda en algo que se necesite, por su gran y buena disposición también de unirse a mi comité de tesis haciéndolo muy contento.

A CONACYT CVU: 631911 por el apoyo económico brindado durante ciclo de mi Maestría.

A todo el personal de Posgrado por su accesibilidad y guía en dudas que me iban surgiendo, brindarme apoyo también.

A todos los Doctores que también me escucharon y me brindaron su apoyo, Dr. Sergio Moreno Limón, Dr. Abram Octavio Rodríguez de la Fuente, Maestra Martha Santoyo Stefano, Maestra Esperanza Castañeda, Dr. Roberto Mercado Hernández, Dr. Pedro Noguera, Dr. Feliciano Segovia, Dr. Rahim Foroughbakhch, Dr. Ramón Gerardo Rodríguez Garza, Dr. Jorge Luís Menchaca Arredondo, Dra. Luisa Yolanda Solís Soto, Dr. Francisco Contreras Cordero y más doctores docentes e investigadores de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L.

A mis compañeros de Maestría: Karla, Héctor y David por trabajar juntos, convivir tanto y compartir buenos momentos y siempre apoyarnos en clases de Maestría, trabajar en equipo, fue muy grato estar y cursar con ustedes la Maestría.

A mis compañeros del Laboratorio de Biología Celular, Priscila, Fabiola, Néstor, Frank, Mariana, Diana, Luis, Yair, Edgar, Daniel, Marco, David, Reyna, Mirthala y Alejandra. Por convivir y su apoyo, por ser un buen equipo de trabajo.

## **DEDICATORIAS**

A Dios porque Él me dio la vida y me dio lo más preciado que puedo tener en mi vida: mi hermosa familia. Él me da las fuerzas para seguir.

A mi esposa Aby, mi hijo Angelito y mi hijo (a) que viene en camino, son mi razón, mi motivación, son todo para mí. Los amo.

A mis padres y mi hermana, fundamentales en mi vida, no me pueden faltar.

A mis Abuelos (†) por parte de mi padre y de mi madre, los extraño mucho, me dio mucho gusto conocerlos, ejemplares personas, los amé, los amo y los seguiré amando siempre. Los recordaré y los llevaré en mi corazón siempre.

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	
DEDICATORIAS.....	
LISTA DE FIGURAS.....	
LISTA DE TABLAS.....	
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	
RESUMEN.....	
ABSTRACT.....	
1.INTRODUCCIÓN.....	1
2.ANTECEDENTES.....	3
2.1 <i>Entamoeba histolytica</i> .....	3
2.1.1 Ciclo de Vida de <i>E. histolytica</i> .....	3
2.1.2 Amibiasis.....	4
2.2 Terapias Alternativas.....	6
2.3 Física de los campos electromagnéticos.....	7
2.4 Efectos biológicos de los CEM.....	9
2.5 Efectos de los CEM a nivel celular.....	12
2.6 Efectos de los CEM a nivel molecular.....	16
2.7 Resonancia y Bioresonancia.....	19
2.7.1 Principios biofísicos de la bioresonancia.....	20



2.7.2 Biofísica de la molécula de agua.....	20
2.7.3 Funciones de los agrupamientos moleculares del agua.....	21
2.7.4 Transferencia de información electromagnética entre sustancias.....	22
2.8 Bacterias Patógenas.....	24
2.8.1 <i>Helicobacter pylori</i> .....	24
2.8.1.1 Generalidades.....	25
2.8.1.2 Clasificación taxonómica.....	25
2.8.1.3 Epidemiología.....	26
2.8.2 <i>Serratia marcescens</i> .....	26
2.8.3 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	27
2.8.3.1 Listeriosis.....	28
2.8.3.2 Tratamiento.....	28
2.9 Ceftriaxona.....	30
3. JUSTIFICACIÓN.....	31
4. HIPÓTESIS.....	32
5. OBJETIVOS.....	32
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
6.1 Material biológico.....	33
6.2 Preparación de la solución madre de metronidazol y ceftriaxona.....	35
6.3 Transferencia de información electromagnética al agua a partir de metronidazol y ceftriaxona.....	36
6.4 Bioensayos.....	37

6.4.1 Evaluación del efecto de la transferencia de información del metronidazol-agua sobre cultivos de <i>E. histolytica</i> .....	37
6.4.2 Evaluación del efecto de la transferencia de información de la ceftriaxona-agua sobre cultivos de bacterias patógenas.....	37
6.4.3 Determinación de UFC/mL.....	38
6.4.4 Análisis Estadístico.....	38
7. RESULTADOS.....	39
7.1 <i>E. histolytica</i> .....	39
7.2 Bacterias patógenas.....	40
7.2.1 <i>Serratia marcescens</i> .....	40
7.2.2 <i>H. pylori</i> .....	41
7.2.3 <i>L. monocytogenes</i> .....	42
7.3 Bioensayos.....	43
7.3.1 Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia del metronidazol-H <sub>2</sub> O sobre <i>E. histolytica</i> .....	43
7.3.2 Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia de la ceftriaxona (1mg/mL)-H <sub>2</sub> O sobre <i>H. pylori</i> .....	45
7.3.3 Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia de la ceftriaxona (1mg/mL)-H <sub>2</sub> O sobre <i>S. marcescens</i> .....	47
7.3.4 Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia de la ceftriaxona (1mg/mL)-H <sub>2</sub> O sobre <i>L. monocytogenes</i> .....	48
8. DISCUSIÓN.....	53
9. CONCLUSIONES.....	57

10. PERSPECTIVAS.....	58
11. BIBLIOGRAFÍA.....	59

## LISTA DE FIGURAS

Número	Descripción	Página
1.	Cinética de crecimiento de <i>E. histolytica</i> .-----	39
2.	Cinética de crecimiento de <i>Serratia marcescens</i> -----	40
3.	Cinética de crecimiento de <i>Helicobacter pylori</i> . -----	41
4.	Cinética de crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> . -----	42
5.	Bioensayo de electrotransferencia del Metronidazol sobre <i>E. histolytica</i> .-----	43
6.	Microscopía del Bioensayo de Metronidazol electrotransferido sobre <i>E. histolytica</i> . -----	44
7.	Bioensayo de Electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre <i>H. pylori</i> -----	45
8.	Bioensayo 2 de Electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre <i>H. pylori</i> .-----	46
9.	Bioensayo de Electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre <i>S. marcescens</i> -----	47
10.	Bioensayo de Electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre <i>L. monocytogenes</i> .-----	49
11.	Bioensayo de Electrotransferencia de Cftx con <i>L. monocytogenes</i> , 3 tubos de ensayo. -----	50
12.	Colonias de <i>L. monocytogenes</i> bajo distintos tratamientos del Bioensayo de electrotransferencia de la Ceftriaxona. -----	51
13.	Bioensayos de electrotransferencia en las 3 bacterias patógenas ( <i>H. pylori</i> , <i>S. marcescens</i> y <i>L. monocytogenes</i> ). -----	52

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1.	Bioensayo de Electrotransferencia del Metronidazol sobre <i>E. histolytica</i> .-----	25
2.	Bioensayo de Electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre <i>H. pylori</i> (Determinación de UFC/mL)-----	44
3.	Bioensayo de Electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre <i>S. marcescens</i> . (Determinación de UFC/mL) -----	46
4.	Bioensayo de Electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre <i>L. monocytogenes</i> . (Determinación de UFC/mL) -----	48
5.	UFC/mL de la bacteria gastro-enteropatógena <i>L. monocytogenes</i> -----	49

## SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

CDC	Center for Disease Control and Prevention
Cel/mL	Células por mililitro
CFTX	Ceftriaxona
Cftx e-	Ceftriaxona electrotransferida al agua
FAO	Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
L.m	<i>Listeria monocytogenes</i>
Met e-	Metronidazol electrotransferido al agua
OMS	Organización Mundial de la Salud
RBP	Recuento Bacteriano en Placa
UFC/mL	Unidades Formadoras de colonias/ mL
WHO	World Health Organization
CEM	Campos Electromagnéticos
TEM	Terapias Electromagnética
Ab	Antibiótico

## 1. INTRODUCCIÓN

Recientemente se han reportado el uso de terapias de medicina alternativas como complementarias y que ha sido demostrado que estas son seguras e inocuas para el paciente. Entre estas terapias se encuentran la fitoterapia, la acupuntura y las terapias electromagnéticas. Dentro de estas terapias electromagnéticas se encuentra la bioresonancia la cual es un método de terapia que permite tratar al ser humano en su totalidad por medio del propio campo vibratorio del cuerpo del paciente y/o sustancias.

Dado lo anterior, en este trabajo evaluamos el efecto de la información electromagnética a diversas frecuencias y tiempos de exposición, proveniente de las drogas de elección contra microorganismos de importancia médica, especialmente aquellos que afectan el sistema gastro-enterico, tales como el protozoo parásito *E. histolytica* causante de la amibiasis y sus diversas manifestaciones clínicas, así mismo evaluamos la actividad de la droga ceftriaxona sobre las bacterias *Helicobacter pylori*, *Serratia marcescens* y *Listeria monocytogenes*. Las drogas fueron electrotransferidas empleando el Sistema BICOM®-2000 en la función sustancia-sustancia.

De acuerdo con la OMS la amibiasis es la condición de portar el parásito intestinal con o sin presencia de manifestaciones clínicas. Se estima que el 10% de la población mundial está infectada por *E. histolytica*, lo que representa 50 millones de casos de amibiasis y hasta 100,00 muertes por año, afectando principalmente a niños y ancianos. La prevalencia de la amibiasis puede llegar a ser del 50% de la población total en los países en desarrollo, como es el caso de México, Centroamérica, India y África. La droga de elección en contra de la amibiasis es el metronidazol, que se caracteriza por provocar muerte selectiva de procariotes y eucariotes, en humanos causa efectos secundarios indeseables como meteorismo y náuseas. Por otra parte, se ha demostrado en algunos estudios que el metronidazol es tanto mutagénico como carcinogénico y en recientes investigaciones se reporta la resistencia de cepas de *E. histolytica* al metronidazol. Por estas razones se ha buscado nuevas terapias que puedan ser aplicables a este problema de salud mundial.

*H. pylori* es uno de los patógenos más relevantes a nivel mundial, es causante de padecimientos como gastritis, úlceras y recientemente se ha vinculado al cáncer de estómago. Debido a que los tratamientos indicados contra la sintomatología ocasionan efectos secundarios y a la resistencia por parte de la bacteria contra antibióticos, se ha optado por buscar nuevos compuestos activos que puedan erradicar a *H. pylori*.

En tanto que *S. marcescens* es una bacteria que se puede adquirir principalmente en los hospitales, especialmente en unidades de cuidados intensivos, siendo las principales puertas de entrada las vías urinaria, respiratoria y vascular (Haddy et al. 1996) y se manifiesta en pacientes que tienen una enfermedad de base como: neoplasia, diabetes o insuficiencia renal crónica (Yu et al. 1998), por otra parte en neonatos pueden causar infecciones y llegando a desarrollar meningitis, bacteremias y pneumonias, con una asociación significativa entre mortalidad y morbilidad (Fisher et al. 2002).

La listeriosis es una infección grave causada por consumir alimentos contaminados con *L. monocytogenes*, la cual recientemente ha sido reconocida como un serio problema de salud pública en los Estados Unidos. La enfermedad afecta principalmente a personas de edad avanzada, mujeres embarazadas, recién nacidos y adultos que tienen el sistema inmunitario debilitado. Sin embargo, también puede afectar a las personas que no presentan estos factores de riesgo (CDC, 2012). La tasa de mortalidad por listeriosis puede ser tan alta como 70% mientras que las tasas de septicemia alcanzan hasta el 50%, y para perinatal/neonatal las tasas de infecciones superan el 80% (FDA, 2007). La manifestación primaria de la listeriosis en el hombre puede incluir la presencia de septicemia, meningitis y encefalitis, habitualmente precedida de síntomas parecidos a los de la gripe, incluida la fiebre (López 2004).

Sin embargo, la resistencia emergente de dichos microorganismos a los antibióticos utilizados de elección limita su uso en el tratamiento de infecciones en países desarrollados, y más aún, en países en vías de desarrollo (Lind et al. 1999, Sherif et al. 2004). El crecimiento de la resistencia a los antibióticos y las complicaciones específicas, son los mayores problemas de las medicinas utilizadas, los cuales demandan la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas.



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 *Entamoeba histolytica*

La amibiasis es una enfermedad parasitaria infecciosa del tracto gastrointestinal, ocasionada por el protozoo parásito *E. histolytica*, representa un problema de salud mundial y afecta principalmente a los países en vías de desarrollo, con mayor frecuencia en las regiones tropicales, con climas cálidos y templados, con mayor orientación en las áreas pobres y mal saneadas en donde de forma habitual predomina la desnutrición, el hacinamiento, y un manejo inadecuado de las aguas en general y de las excretas, haciendo frecuente tanto la infección como la enfermedad, existiendo por lo tanto una fuerte correlación entre éstas condiciones y frecuencia de la enfermedad. Se estima que el 10% de la población mundial está infectada por *E. histolytica*, ocupa el tercer lugar como causa de muerte provocada por protozoarios, lo que resulta en aproximadamente 50 millones de casos de amibiasis invasora y las 100,000 muertes por año, la prevalencia de infección amibiana puede ser tan alta como el 50% de ciertas áreas de los países de desarrollo. Tasas elevadas de infección amibiana se reportan principalmente en la India, África y Centroamérica; en México constituye un problema muy importante de salud pública por su frecuencia y mortalidad (Padilla 1999).

La Organización Mundial de la Salud define a la amibiasis como la presencia de *Entamoeba histolytica* en el organismo, cause o no manifestaciones clínicas (WHO, 1997).

La prevalencia de la amibiasis y sus manifestaciones es mayor en niños menores de 5 años, mientras que el absceso hepático amibiano es más frecuente en varones entre 35-45 años asociándose con una alta mortalidad (Carreda, 1989).

#### 2.1.1 Ciclo de vida de *E. histolytica*

Quistes y trofozoítos: *Entamoeba histolytica* cuyo significado es “amiba destructora de tejido” presenta dos fases principales en su ciclo de vida. El quiste: es una célula esférica de 10 a 15  $\mu\text{m}$  de diámetro, con cuatro núcleos y una gruesa pared probablemente de

quitina, que lo protege de los cambios ambientales. No se adhiere al epitelio intestinal por lo que se expulsa junto con las heces fecales. Debido principalmente a su cubierta protectora puede vivir en el ambiente, en ocasiones por meses, dependiendo de las condiciones de temperatura y humedad en que se encuentre. Es resistente a las altas concentraciones de cloro, pero puede ser eliminado por filtración y destruirse por ebullición, yodo a 200 ppm y con ácido acético preparado a 5-10 % (Orozco, 1999). Cuando los quistes han salido junto con las heces fecales contaminan las manos, el agua, las verduras, las frutas y alimentos en general, hasta encontrar otro huésped al cual infectan, por lo que es importante eliminar los quistes tanto del agua y de los alimentos contaminados, así como del intestino de los portadores y diseminadores de la enfermedad.

El quiste es la forma infectiva de la *E. histolytica*. Una vez que el quiste se ingiere, la pared de quitina se reblandece en el intestino delgado, la célula deja la pared, y rápidamente produce ocho trofozoítos uninucleados. Son altamente móviles y pleomórficos, miden entre 10 y 40  $\mu\text{m}$  y son muy fagocíticos, se alimentan de bacterias, glóbulos rojos y células epiteliales. Tienen una gran cantidad de enzimas que digieren la matriz extracelular y ayudan a abrir el camino durante la invasión del epitelio intestinal por parte del parásito. Poseen las enzimas que participan directamente en la invasión del tejido y la destrucción de las células del huésped, lo que llama más la atención es una pequeña proteína llamada amebaporo la cual se inserta en la membrana de la célula blanco y le produce perforaciones (Lynch et al. 1982). El trofozoíto está más estudiado que el quiste dada la imposibilidad hasta ahora de contar con una metodología que permita reproducir el ciclo de vida de *E. histolytica*, el reto fundamental es bloquear su acción patógena contra las células blanco.

### **2.1.2 Amibiasis**

*E. histolytica* es una causa común de diarrea crónica y aguda, particularmente en países en desarrollo. El espectro clínico de la enfermedad puede ir de portador asintomático a enfermedad invasiva con formación de abscesos hepáticos secundarios a su actividad lítica de tejidos. El metronidazol (MTZ) oral en 750 mg tres veces diarias por 5 a 10 d es el tratamiento de elección tanto para la infección gastrointestinal aguda, como para el

absceso hepático (Powell et al. 1966; Mahajan et al. 1974; Lykkegaard-Nielsen y Jutesen 1977). En más del 50% de los pacientes, la fiebre se resuelve en tres días después de haber iniciado el tratamiento. Desafortunadamente, una respuesta rápida al tratamiento con metronidazol no puede predecir un control a largo plazo de las infecciones por *E. histolytica*. Un estado de colonización asintomática persiste en aproximadamente 60% de los pacientes tratados con metronidazol y requiere el tratamiento subsecuente con diloxanida o paromomicina (Chacín 2012).

El metronidazol es la droga de elección en contra de amibiasis, que se caracteriza por provocar muerte selectiva de procariotes y eucariotes. Es altamente eficaz contra todas las formas de amibiasis intra y extra intestinal. Su mecanismo de acción anti-protozoaria depende de su reducción química intracelular, en estas condiciones interactúa con el DNA y produce pérdida de la estructura helicoidal y rompimiento de las bandas, estas acciones inhiben la síntesis de ácidos nucleicos y produce muerte celular. En cuanto a su vida media de excreción se absorbe bien a través de la mucosa gastrointestinal, se metaboliza en hígado y se elimina en orina; presenta vida media de 8 horas, se prolonga a 18 horas en pacientes con enfermedad hepática. Por otra parte, se ha demostrado en algunos estudios con ratones que el metronidazol es tanto mutagénico como carcinogénico (Legator et al. 1975), y recientes investigaciones reportan la resistencia de la cepa HM1-IMSS de *E. histolytica* al metronidazol (Samarawickram et al. 1997).

Algunos de los efectos secundario de este medicamento que aunque no son comunes, pero en pacientes podrías llegar a presentarse: meteorismo, cefalea, visión borrosa ocasional y pasajera, vómitos, diarrea, malestar estomacal, pérdida del apetito, sensación de sequedad de la boca; sabor metálico y desagradable, orina oscura o rojiza, sensación de lengua sarrosa (lanuda); irritación de la boca o de la lengua, adormecimiento o cosquilleo en las manos o pies, sarpullido (erupciones en la piel), prurito (picazón), congestión nasal, fiebre, dolor en las articulaciones; y algunas de las contraindicaciones que puede presentar el paciente son: hipersensibilidad, discrasias sanguíneas durante la lactancia. Además, durante el tratamiento deberá evitarse el consumo de bebidas alcohólicas ya que aumenta el efecto de los anticoagulantes orales y puede producir sangrados; además coadministrado con Disulfiram produce psicosis aguda o estado

confusional; con barbitúricos induce falla terapéutica que acorta la vida del metronidazol.

## 2.2 Terapias alternativas

Una de las terapias alternativas es la Bioresonancia (es la aplicación del fenómeno de resonancia física al área del sistema biológico), la cual es un método de terapia que permite tratar al ser humano en su totalidad (de manera holística) por medio del propio campo vibratorio del cuerpo del paciente y/o de sustancias como el agua.

La información electromagnética procedente de una fuente externa es unida al agua en forma de oscilaciones electromagnéticas, posiblemente en las denominadas estructuras de cluster que son agrupaciones moleculares en el agua (Del Giudice et al. 1988), posteriormente se demostró que se pueden transferir señales moleculares (oscilaciones electromagnéticas) proveniente de moléculas encargadas de llevar mensajes (como antígenos, hormonas e incluso ciertos medicamentos) por medios electrónicos via circuito electrónico con un amplificador (Aissa et al. 1993); es decir, hacer oscilar el agua con frecuencias y patrones provenientes de otras sustancias usando radiofrecuencias como medio (Sinitsyn et al. 1998).

La información electromagnética puede ser transferida mediante un aparato de bioresonancia (BICOM-2000). La metamorfosis de anfibios (*Rana temporalia*) de estadios inmaduros puede ser altamente reducida transfiriendo información de una solución altamente concentrada de la hormona tiroxina (1.25 mM) a un acuario en un número de pruebas paralelas (Endler et al. 1995).

En un trabajo realizado en esta institución (datos inéditos) se obtuvieron resultados favorables en la inhibición de cultivos axénicos *in vitro* de *Tricomonas vaginalis* (85% de la inhibición) y *Entamoeba histolytica* (47% de inhibición) al transferir metronidazol [0.124 µg/mL] al agua empleando un equipo BICOM-2000 (Torres 2006).

### **2.3 Física de los campos electromagnéticos**

Desde tiempos muy remotos el hombre ha tenido noticia de los fenómenos magnéticos. Así desde los años 640-546 a. de. C. Tales de Mileto hablaba de las atracciones magnéticas. Hace 2,000 años, los chinos desarrollaron la brújula magnética para la navegación y sus viajes en los desiertos de Mongolia. La brújula se fundamenta en adoptar una orientación, la cual es ejercida por un campo magnético circundante (Wood 1991). Pero no es hasta los últimos años cuando a los campos electromagnéticos (CEM) se les ha estudiado intensamente.

El campo magnético es la región en el espacio en la cual un objeto magnetizado puede a su vez magnetizar a otros cuerpos. Recientemente se descubrió que la configuración del campo magnético puede obtenerse con el auxilio de una brújula o con limaduras de hierro. Por otro lado si se rompe un imán en un intento de separar los polos, se encuentran otros nuevos formados en los extremos rotos; si uno de esos pedazos se rompe, otra vez aparecen de nuevo dos polos de clase opuesta. Tantas veces como se repita este proceso se tiene el mismo resultado y por lo tanto no es posible obtener un polo magnético aislado (Stewart 1979).

En 1820 el físico danés Hans Oersted observó que una corriente eléctrica puede cambiar la orientación de la aguja de una brújula en forma semejante a como lo hace un imán. Este descubrimiento puso de manifiesto que en un conductor con corriente alterna existe también un campo magnético y que el movimiento de cargas eléctricas está íntimamente relacionado con el origen de estos campos (Galar 1988).

Por otra parte, se dice que existe un campo eléctrico en un punto, si actúa una fuerza de origen eléctrico sobre un cuerpo estacionario cargado situado en dicho punto. Cualquier otra carga eléctrica colocada en un punto de ese campo eléctrico, experimenta una fuerza producida por su interacción con la primera carga (Lin 1994).

La intensidad de un campo eléctrico está dada por el potencial eléctrico sobre una distancia determinada y se expresa en volts/metros (V/m) o milivolts/centímetro (mV/cm). Cuando un sistema biológico está expuesto a un campo eléctrico, las cargas móviles cambian en la dirección inducida por el propio campo, formando así una

corriente, la cual se mide en amperes (A). Con referencia a cierta área de un tejido u órgano atravesado por cargas eléctricas, habrá una cierta densidad de la corriente en sí mismo, la cual es medida en amperes/m<sup>2</sup> (A/m<sup>2</sup>) o en mA/cm<sup>2</sup> (Walleczek 1992).

Por otro lado, la intensidad del campo magnético esta medida en Gauss (G) o, en tesla (T) de donde 1 T=10<sup>4</sup> G Para tener dos términos comparativos, la intensidad del campo magnético de la tierra está en el orden de 0.02 a .07 mT, mientras que la magnitud usada para resonancia magnética está en el orden de 0.01 a 10 mT (Walleczek 1992).

Cuando los campos magnéticos y eléctricos varían con el tiempo en una determinada región, se dice que ambos campos están estrechamente relacionados. Es decir, todo campo eléctrico que varía con el tiempo va siempre acompañado de un campo magnético, también variable y a la inversa, por lo cual si se produce un campo magnético, este va acompañado de otro campo eléctrico asimismo variable. Esta interrelación entre los campo eléctricos y magnéticos hace que se hable más bien de un CEM como una sola entidad física (Parker 1993).

Los CEM pueden clasificarse en: a) Homogéneos: en los cuales la intensidad es uniforme en el área determinada, b) Heterogéneos: en los que el campo magnético es variable con respecto al área, c) Estáticos: en los cuales la intensidad es constante con respecto al tiempo, d) Oscilantes: que presentan variación de la intensidad a una frecuencia determinada (Pothakamury et al. 1993).

Las oscilaciones electromagnéticas en la región de bajas frecuencias y longitudes de onda muy largas, como aquellas de los circuitos domésticos de 60 Hertz (Hz), irradian muy poca energía, ya que se sabe que la energía de una onda electromagnética es directamente proporcional a su frecuencia e inversamente proporcional a su longitud de onda. A medida que la frecuencia aumenta, se llega a longitudes de onda muy cortas y las radiaciones de esta clase llegan a depositar una cantidad de energía tan considerable que a tales emisiones se les denomina radiaciones ionizantes, como por ejemplo; los rayos X y Gamma. Por ello, las radiaciones generadas por los CEM de frecuencia de 60 Hz son del tipo no ionizante, es decir, los efectos que se producen son por mecanismos diferentes a aquellos que involucran el desplazamiento de electrones en átomos y

moléculas blanco (Strother 1980).

## **2.4 Efectos biológicos de los CEM**

Hoy en día la biología molecular parece ser la base interpretativa principal para todos los fenómenos celulares y patofisiológicos, incluso abarca procesos neuronales y psíquicos. La explicación del proceso de enfermedad, ya sea genética o adquirida, se está estudiando. Posiblemente está localizada en mecanismos que consisten en modificaciones cuantitativas y/o cualitativas de moléculas particulares formando parte de varios sistemas anatómicos y fisiológicos. En relación con el paradigma molecular de enfermedad, el tratamiento médico es hoy en día mayormente buscado en el acercamiento convencional farmacológico. Sin embargo, la necesidad de investigación en diferentes campos es sugerido por el hecho que el fenómeno biológico está caracterizado por altos niveles de organización, y muchos archivos experimentales mencionaron que se debía a formas de comunicación intermolecular e intercelular de naturaleza biofísica. Como menciona (Kroy 1989), en los seres vivos existe un orden cibernético ancestral que no está basado en el sistema nervioso o en el sistema humoral (sangre, hormonas). Se piensa que este sistema ancestral parece ser de naturaleza electromagnética, porque la radiación electromagnética es la forma más básica de información presente en la naturaleza. Las señales electromagnéticas están constituidas (y permanecen constituidas) por el lenguaje de comunicación entre átomos y moléculas y son los medios primordiales para que los organismos reciban una información desde el medio ambiente (luz solar y ondas cósmicas). Es factible que los seres vivos pueden entonces usar el electromagnetismo como un sistema de señalización e información y así es como se lleva una comunicación entre células y tejidos. De acuerdo a los estudios de Popp y su grupo de trabajo (Popp 1985, Popp et al. 1989, Ho y Popp 1994), muchos sistemas biológicos son capaces de producir, recibir y aún de almacenar ondas electromagnéticas como luz u otras.

La búsqueda de un acercamiento unitario, capaz de asegurar una síntesis multidisciplinaria y el definir la naturaleza del proceso de enfermedad como altos niveles de desorganización, es cada vez más difícil de experimentar usando el paradigma molecular. En este contexto, el emergente paradigma bio-electromagnético jugará un

papel importante porque reevalúa una forma importante de comunicación de largo rango no solo como intermolecular sino también a niveles supramoleculares de organización de los sistemas biológicos. Por otra parte, un paradigma biofísico es necesario con el fin de desarrollar modelos de trabajo e hipótesis que expliquen el posible efecto de los remedios altamente diluidos, a menudo usados por médicos homeópatas como las diluciones más allá del número de Avogadro. Todavía no hay una explicación exhaustiva de cómo una transferencia de información de estos remedios puede tomar lugar en el cuerpo humano, pero, si el problema es enfocado en términos físicos y no meramente químicos, es muy probable alguna explicación acerca de la sensibilidad de los sistemas vivientes a energías sutiles, como las acarreadas por los campos electromagnéticos (Smith 1994).

Actualmente se ha estudiado la radiación de baja energía y baja frecuencia, que actúa de diversas formas, comparada con la radiación ionizante. Los efectos biológicos tardíos de la ionización (separación de electrones de los orbitales atómicos) de las moléculas y así las graves alteraciones como daño a los cromosomas, peroxidación de la membrana lipídica, etc. En contraste, la energía de la radiación con frecuencias de 0 a cientos de GHz es muy baja como para causar cambios fisicoquímicos de este tipo y en la mayoría puede producir efectos termales (calentamiento, como en el funcionamiento de los hornos de microondas).

También se ha sugerido que los efectos de los campos electromagnéticos no ionizantes en el cuerpo humano pueden ser usados para propósitos terapéuticos de diversas patologías (Pool 1990).

Los CEM son utilizados en diversos casos para propósitos terapéuticos, como la estimulación electromagnética de la osteogénesis, en los casos de pseudoartrosis y retardos de consolidación de fracturas (Chiabrera et al. 1984). Por otra parte, el electrocardiograma y electroencefalograma son dos métodos para medir la actividad eléctrica endógena del corazón y los centros nerviosos. La actividad eléctrica también es generada en los huesos cuando éstos se deforman; tal actividad puede ser definida como piezoeléctrica y parece ser importante para dirigir el crecimiento de trabéculas óseas a lo



largo de líneas de refuerzo mecánico. En la actualidad, uno de los primeros usos clínicos de campos magnéticos débiles fue precisamente la inducción de la reparación ósea (Bassett et al. 1974).

Los organismos animales han desarrollado gran sensibilidad a las ondas electromagnéticas. Un ejemplo es la sensibilidad del ojo a la luz, el cual es capaz de percibir solo unos pocos fotones. Los experimentos de Smith (Smith et al. 1985, Smith 1990 y Smith 1989) ilustran el concepto de “Sensibilidad” a las mínimas perturbaciones de los campos electromagnéticos.

Las manifestaciones alérgicas podrían ser clasificadas rápidamente dentro de un rango particular de una banda de frecuencias, de acuerdo a los pacientes de una forma individual, de pocos Mhz a un gran número de Mhz. No era entonces tan importante la intensidad en la salida del oscilador (pocos V/m) sino también la frecuencia del mismo. Estos investigadores no solo demostraron la habilidad de desencadenar reacciones alérgicas con ondas electromagnéticas, sino que también los pacientes sensitivos a este tipo de estimulación, produjeron ellos mismos señales electromagnéticas durante dichas reacciones alérgicas.

Por otra parte, en el desarrollo de pruebas alergométricas en el caso de pacientes hiperactivos, los investigadores encontraron que las reacciones alérgicas inducidas por contacto con agentes químicos podrían ser neutralizada tratando a los pacientes con frecuencias particulares. Si las mismas frecuencias eran usadas para tratar agua pura, más tarde ésta adquiriría las propiedades terapéuticas neutralizantes. Si por otro lado, el agua era expuesta a frecuencias capaces de inducir la reacción, ésta adquiriría las propiedades de un alérgeno. El tratamiento del agua fue realizado introduciendo tubos de ensayo conteniendo agua dentro de solenoides conectados a un oscilador. Los cambios inducidos en el agua, capaz de inducir reacciones alérgicas en pacientes hipersensitivos persistían de 1 a 2 meses.

Respecto a un estudio en que larvas de anfibios fueron expuestas a diluciones de tiroxina preparadas de acuerdo al protocolo homeopático, donde el líquido (tiroxina) así como el control de agua fue introducido en ampulas de vidrio, el agua fue obtenida del depósito

que contenía a los animales. Fueron observados efectos altamente significativos en el nivel de metamorfosis, similares a los efectos del líquido (tiroxina) agregado gota a gota directamente al agua del estanque. Los autores también reportan resultados de la información molecular transferida o almacenada mediante un acarreador de información por medio de un equipo electrónico. Esto es un argumento válido a favor de la efectiva existencia de información molecular y su presencia en sustancias acuosas (Endler et al. 1995).

## **2.5 Efectos de los CEM a nivel celular**

Se sabe que la radiación electromagnética puede causar cambios substanciales a nivel celular, estos datos han sido basados en los efectos potencialmente tóxicos de la radiación electromagnética media y alta energéticamente hablando, tal como los rayos X, ultravioleta y gamma. Según lo antes mencionado, las investigaciones sobre los mecanismos de los efectos biológicos de la radiación no ionizante recientemente han comenzado. Las ondas electromagnéticas, aún sean de baja energía y de amplia longitud de onda, se sabe que generan calor, cuando son absorbidas por la materia biológica.

Una contribución importante se puede encontrar en un estudio publicado en la revista Science (Weaver y Astumian 1990). Estos autores proponen los modelos físicos sobre los cuales las células son consideradas como detectores de campos magnéticos periódicos muy débiles y dónde las relaciones entre el tamaño de la célula y los cambios en el potencial de la membrana debido a las fluctuaciones de inducción de temperatura y a la aplicación de campos electromagnéticos están establecidos. En la versión más simple del modelo, el cálculo estima aproximadamente  $10^{-3}$  volts/cm la intensidad del mínimo campo al cual las macromoléculas de la membrana podrían ser sensibles. Sin embargo, si los parámetros del modelo considerados toman lugar en la supuesta frecuencia "ventana", es decir la posibilidad que ciertas respuestas ocurran solamente dentro de una estricta banda de frecuencia, y cierta intensidad parece estar en niveles de baja magnitud ( $10^{-6}$  volts/cm).

Por su parte, el sistema nervioso está dirigido por débiles corrientes eléctricas (Alberts et al. 1989). Cuando un proceso nervioso se desarrolla en cultivo o aún en tejido conectivo,

se forma en su ápice una estructura llamada “cono de crecimiento”, que aparece como el centro de extensión de muchos filamentos largos (filopodos) que parecen moverse lenta y continuamente semejante al movimiento de los dedos, realizando movimientos ameboides: algunos se contraen, y otros se estiran, como si exploraran el terreno. Dentro de los filopodios son encontrados muchos filamentos de actina. El cambio vectorial neto del cono de crecimiento en una dirección es seguida por un estiramiento de la fibra nerviosa (en un índice estimado de 1 milímetro por día). La dirección del movimiento depende de varios factores locales, por ejemplo, la orientación de las fibras de la matriz del tejido conectivo, a lo largo de la cual el crecimiento ocurre preferentemente, e incluso la existencia de los sistemas de reconocimiento de membrana específicos entre células adyacentes. Las células, sin embargo, también son altamente influenciadas por los campos eléctricos: los conos de crecimiento de neuronas en cultivo se orientan y se dirigen hacia un electrodo negativo en presencia de campos de baja intensidad (70 mV/cm).

Las células tienen la capacidad para recibir e integrar ligeras señales electromagnéticas, percibiendo su frecuencia y dirección. Esto se ha demostrado por medio de equipos de microscopía de contraste de fase con luz infrarroja (Albrecht-Buehler 1991). Los fibroblastos 3T3 en cultivo extienden filopodios preferentemente hacia las fuentes de luz, las fuentes luminosas más eficaces son las intermitentes en el intervalo de 800-900 nm con 30-60 impulsos por minuto. Según el autor de estos experimentos, el receptor de la radiación de la célula es el centrosoma.

También hay evidencia que la actividad proliferativa de la célula es influenciada por los campos electromagnéticos y eléctricos, aún de intensidades muy bajas de 0.2 - 20 mT y 0.02 - 1.0 mV/cm (Luben et al. 1982, Conti et al. 1983, Cadossi et al. 1992, Walleczek 1992).

Es importante observar que, en base a la literatura disponible hasta la fecha, es imposible cualquier conclusión definida en cuanto a los efectos positivos o negativos, estimulantes o inhibitorios de campos electromagnéticos en sistemas celulares o moleculares y sobre todo en cuanto a dosis y modalidades de uso (Walleczek 1992). De hecho, las señales

electromagnéticas bioactivas usadas varían muy considerablemente en términos de intensidad, frecuencia, duración, y de la forma de onda (sinusoidal, cuadrada, diente de sierra, etc.). Por otra parte, el efecto puede también depender del estado biológico de las células expuestas (Cossarizza et al. 1989, Walleczek 1990), indicando que están implicados mecanismos de interacción muy compleja entre muchos diversos factores.

Por su parte, muchas enzimas y receptores parecen ser sensibles a estímulos de origen físico así como de origen químico (Adey 1988, Tsong 1989, Popp et al. 1989). La membrana celular, en virtud de sus características bioeléctricas, es el sitio principal donde residen influencias de origen físico y químico (Kell 1988), aunque otros posibles candidatos son las grandes macromoléculas organizadas en unidades repetidas, tales como los ácidos nucleicos (Popp 1985), o las proteínas del citoesqueleto, particularmente los microtúbulos (Hameroff 1988). La base biológica del efecto de los campos magnéticos en las células es altamente compleja. La célula constituye un típico sistema electroquímico, con una diferencia de potencial transmembranal (exterior positivo comparado con el interior negativo) y un número muy grande de proteínas dotadas con cargas eléctricas que varían de signo. Según el modelo del mosaico fluido de la membrana (un modelo que sigue siendo válido, por lo menos en términos generales) en una célula ideal, las proteínas se distribuyen uniformemente sobre la membrana, pero en la presencia de un campo eléctrico atravesando la membrana, experimenta atracción o repulsión electroforética, tendiendo a cambiar de lugar los polos que la célula presenta en la dirección del campo eléctrico. Cuando una corriente de electrones o de iones invade una célula fluyendo alrededor de ella, causan un movimiento de proteínas en la dirección opuesta.

El cambio de posición de las proteínas en la superficie de la membrana no está desprovisto de consecuencias, esto favorece el contacto entre las proteínas vecinas y retrasa el contacto entre las proteínas distantes. Por ejemplo, el funcionamiento de los receptores y sistemas de transducción de membrana dependen de agregaciones entre ciertas proteínas o por lo menos de contacto entre ellas, por otro lado, los efectos del campo eléctrico en la activación de algunos procesos intracelulares son tema de gran importancia para la investigación científica. Actualmente, se ha estudiado que el

fenómeno de agregación ocurre normalmente en el caso de una señal química, porque la molécula señal puede servir como puente entre dos o más receptores, que son móviles dentro de la membrana. Por supuesto, este modelo es una simplificación muy substancial de lo que sucede en realidad, donde las concentraciones de iones de calcio, magnesio, sodio, potasio y de hidrógeno vienen en juego, así como el efecto directo posible del campo magnético en las macromoléculas como enzimas, receptores o del citoesqueleto. A través de la bicapa lipídica de las membranas biológicas, de aproximadamente 40 Å de grosor, se establece un gradiente eléctrico de 10 o hasta centenares del mV, que significa algo como 105 volts/cm. Este gradiente debe constituir teóricamente una barrera eléctrica eficaz contra perturbaciones mínimas tales como los campos electromagnéticos de baja frecuencia presentes en la membrana extracelular. Es decir la actividad eléctrica natural de la membrana constituiría una clase de "ruido de fondo" que prevendría la posibilidad de percibir variaciones mínimas en potencial. Sin embargo, investigaciones muy recientes, han demostrado que los campos electromagnéticos de magnitud más débil que el gradiente del potencial transmembranal son capaces de modular las acciones de hormonas, anticuerpos y de neurotransmisores en el receptor y el nivel del sistema de transducción. Esto sugiere que procesos altamente cooperativos están incluidos, es decir, que repitieron las mínimas variaciones para causar mayores movimientos. Es un efecto similar al que ocurre cuando un puente comienza a oscilar cuando un grupo de hombres cruce sobre él en paso de marcha, o cuando un cristal se rompe como resultado de resonancia (Chiabrera et al. 1984).

Las sensibilidades observadas en procesos biológicos de modulación electromagnética están en el orden de  $1 \times 10^{-7}$  volts/cm a intervalo de ELF (frecuencia extremadamente baja). Por otra parte, muchas de estas interacciones dependen de la frecuencia, es decir ocurren solamente en ciertas ventanas de frecuencia, que sugerirían la existencia de sistemas de regulación no lineal lejos del equilibrio (Adey 1988, Weaver y Astumian 1990, Yost y Liburdy 1992). Sensibilidades similares se han detectado en un amplio espectro de tejidos y de células, indicando que nuestros tejidos y células están dotados con una propiedad biológica característica. Además, se postulan también las ventanas de intensidad del campo.

## 2.6 Efectos de los CEM a nivel molecular

Se sabe que muchos elementos moleculares con receptor, con funciones estructurales y enzimáticas, son sensibles a cambios en los campos electromagnéticos débiles: fotorreceptores y clorofila (Alberts et al. 1989), receptores con 7 dominios transmembranales (Bistolfi 1989), glicoproteínas y proteína quinasa C (Adey 1988), AMPc dependiente de la proteína quinasa (Byus et al. 1984), lisosimas (Shaya y Smith 1977), receptores de agregación (Chiabrera et al. 1984), cromosomas (Kremer et al. 1988), biopolímeros de proteínas y lípidos (Hasted 1988), Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa (Liu et al. 1990).

La mayoría de las moléculas proteínicas son capaces de pasar reversiblemente a partir de un estado conformacional a otro en virtud de varias combinaciones posibles de los enlaces de hidrógeno, puentes disulfuro y de las fuerzas hidrofóbicas. Estos pasos ocurren por medio de cambios no lineales, o de saltos, para superar las barreras de energía entre un estado y otro. Las proteínas son así estructuras dinámicas, que vibran con componentes experimentando movimientos oscilatorios continuos, que ocurren sobre una escala de tiempo que se extiende de los femtosegundos ( $10^{-15}$ s) hasta varios minutos. Las vibraciones más significativas de los sistemas biológicos están en el orden de los nanosegundos (Hameroff 1988). Es muy importante mencionar el hecho de que en biología, muchas proteínas y también otros compuestos químicos tales como lípidos están ensamblados en grupos multiméricos o poliméricos. En estas estructuras, las interacciones cooperativas y colectivas ocurren fácilmente, con el resultado de que las vibraciones pueden propagarse de manera coherente y como tal, pueden adquirir una significancia biológico-informativa (Frohlich 1988, Del Giudice et al. 1988, Bistolfi 1989).

La transferencia de señales químicas y electromagnéticas desde la superficie externa de la célula a través de la membrana consiste en la transmisión de variaciones conformacionales y de los movimientos oscilatorios de las proteínas que tienen dominios transmembranales. Se ha demostrado que un papel importante en esta transmisión es desempeñado por las porciones de las proteínas que tienen estructuras helicoidal o estructuras fibrosas como la lámina beta plegada (Bistolfi 1989). Tales estructuras son caracterizadas por un grado substancial de orden y por el arreglo en secuencias

repetitivas, también por la existencia de puentes de hidrógeno entre los residuos amino de los aminoácidos adyacentes dispuestos longitudinalmente a lo largo de la fibra.

Estas estructuras de la proteína son características por su capacidad de resonar según modos no lineales de vibración, como resultado de la interacción con los campos electromagnéticos. El prototipo de este tipo de receptor es la rodopsina, el receptor de luz en la retina, que consiste de 7  $\alpha$ -hélices dispuestas en una manera ordenada transversal al plano de la membrana en la cual se sitúa. En este tipo de receptor-transductor, la excitación que resulta de la absorción del fotón se liga al bombeo de un protón y a la estabilización de un potencial transmembranal. Sin embargo, esta estructura con 7  $\alpha$ -hélices cruzando la membrana también es encontrada en una familia extensa de glicoproteínas implicadas en sistemas de transmisión celular acoplados a los receptores adrenérgicos tales como los receptores muscarínicos para acetilcolina, varios receptores para neuropéptidos, los receptores para los péptidos quimiotácticos en los leucocitos de la sangre e incluso los sistemas de reconocimiento mútuo en células de levadura implicadas en la fusión replicativa (Alberts et al. 1989). Por lo tanto, probablemente estas características estructurales ayudan a los sistemas de transmisión y son susceptibles a la modulación electromagnética.

Estudios enfocados en la modulación electromagnética en relación con la producción de colágeno por los osteoblastos son consistentes. Se ha demostrado, que la hormona paratiroides une osteoblastos a receptores externos y activa la enzima adenilciclase por medio de la mediación de una glicoproteína. Un campo electromagnético con una frecuencia de 72 hz y un gradiente eléctrico de 1.3 mV/cm indujeron un 90% de inhibición de la activación de la adenil ciclase sin interferir con el enlace del receptor o con la enzima misma. Consecuentemente, el efecto inhibitorio fue atribuido al bloqueo de la glicoproteína (Adey 1988).

Por su parte, el AMP cíclico (AMPc) es un elemento importante en controlar la función de muchas enzimas, particularmente un aumento intracelular en el AMPc constituye un mensaje activador para las proteínas quinasas. En condiciones experimentales controladas en la frecuencia y duración de exposición, la proteína quinasa dependiente

del AMPc de linfocitos humanos ha sido inhibida por ondas electromagnéticas (campo de 450 MHz modulados en amplitud a 16 Hz). La proteína quinasa del tipo C, la cual está implicada en procesos importantes de la célula como en carcinogénesis permanece sin conocerse del todo, sin embargo ésta también puede ser modulada por ondas electromagnéticas (Byus et al. 1988).

Por otra parte, la actividad catalítica de la enzima lisozima es sensible a las ondas electromagnéticas (radiofrecuencias a partir de 0.1 a 150 MHz) (Shaya y Smith 1977). En estos experimentos, soluciones de lisozimas fueron expuestas, en presencia de dosis submáximas del inhibidor competitivo n-acetil-glucosamina (NAG), a diversas frecuencias electromagnéticas provistas por un oscilador por medio de una bobina envuelta alrededor de un envase de policarbonato con la solución de la enzima. El efecto principal observado era una modificación de la inhibición producida por la NAG. Fue interesante, que las frecuencias específicas aumentaron el efecto del inhibidor, y otras frecuencias (Por ejemplo, 100 MHz) disminuyeron el efecto, potenciando la actividad al nivel de la lisozima desinhibida, mientras que otras frecuencias (ejemplo, 150 MHz) no tenían ningún efecto. La inspección de la gama entera de frecuencias entre 0.1 y 150 MHz demostró picos alternantes de estimulación y de inhibición de la actividad enzimática, sin ninguna regularidad evidente. Las medidas subsecuentes entre 30 y 50 MHz demostraron otros detalles en los efectos producidos. Por lo tanto, la relación entre la frecuencia y la actividad parece demostrar una tendencia caótica.

Según Tsong 1989 y Liu et al. 1990, las formas convencionales conocidas de comunicación intercelular, tales como la interacción ligando-receptor, son procesos lentos, pero las células también necesitan formas rápidas de comunicación para largas distancias, con el resultado de que se ha postulado que las varias reacciones bioquímicas, que están en cualquier acontecimiento necesario, son reguladas por fuerzas de naturaleza física. Dado que los campos electromagnéticos oscilantes débiles son capaces de estimular o suprimir muchas funciones celulares, desde el punto de vista termodinámico, se postula que esto es posible solamente si existen mecanismos de amplificación de señales, en él que la membrana celular es un sitio de la amplificación.



Los experimentos realizados por el equipo de Tsong indican que un campo eléctrico débil (20 V/cm) es capaz de activar la función de la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  dependiente de la ATPasa solamente si las frecuencias específicas se utilizan simultáneamente, correspondiendo a 1 KHz para el bombeo de  $\text{K}^+$  y de 1 MHz para el bombeo de  $\text{Na}^+$ . Estos resultados han conducido a la formulación del concepto del "acoplador electroconformacional". Este modelo postula que una proteína enzimática experimenta cambios conformacionales como resultado de una interacción Coulomb con un campo eléctrico (o con cualquier otro campo de fuerza oscilante con el cual la proteína pueda interactuar recíprocamente). Cuando la frecuencia del campo eléctrico corresponde a la característica cinética de la reacción de transformación conformacional, una oscilación es inducida entre diferentes conformaciones de la enzima. En el campo de fuerza óptimo, las conformaciones así realizadas son funcionales y las oscilaciones se utilizan para realizar la actividad requerida, por ejemplo, el bombeo de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{K}^+$ .

Por otra parte, la organización del DNA en los cromosomas es afectada por influencias de una naturaleza electromagnética, según lo demostrado en una serie extensa de estudios por Kremer y sus colaboradores. Estos autores utilizaron un modelo de cromosomas gigantes de insectos (larvas de *Acrisotopus lucidus*), que son fácilmente visibles y pueden ser estudiados bajo del microscopio. Se conoce bien que cuando la información tiene que ser transcrita de DNA a RNA, los cromosomas tienen una descondensación parcial, mostrando pedazos de material genético emitidos de la barra en segmentos relevantes. Este fenómeno es inhibido fuertemente y perceptiblemente en el sentido que los pedazos son mucho más pequeños por la irradiación al cromosoma con frecuencias de alrededor 40 a 80 GHz y salidas de solamente 6 mW/cm<sup>2</sup>.

## **2.7 Resonancia y Bioresonancia**

Cuando un sistema mecánico o acústico es excitado por una fuerza periódica externa la cual iguala la frecuencia natural de oscilación del sistema, la amplitud de oscilación se vuelve mayor y entonces el sistema se dice que ha entrado en estado de resonancia (Parker 1993).

### **2.7.1 Principios biofísicos de la bioresonancia**

El comienzo de la bioresonancia surgió con la aparición de los circuitos oscilantes. El origen de los circuitos oscilantes comienza con Georges Lakhovsky en 1924 quien también trabajó con generadores de ondas ultracortas y múltiples (radio-oscilador celular). En 1936 laboratorios alemanes dan conocer la acción de “circuitos cerrados” sobre los seres vivos (Servranx 1994).

La bioresonancia se convirtió en una forma terapéutica para los seres humanos, ya que en 1977 el Doctor alemán Franz Morell fue llamado el padre de la terapia con bioresonancia. Él postuló la idea de recibir y retornar las propias oscilaciones electromagnéticas de un ser vivo mediante electrodos para generar un efecto terapéutico altamente efectivo, también fue el primero en aplicar una ley física para anular las oscilaciones electromagnéticas disarmónicas del cuerpo que causan enfermedades, lo cual consiste en invertirlas exactamente como imágenes en el espejo. Por último, el Dr. Morell y su hijo, Erick Rasche, desarrollaron la primer máquina que utiliza oscilaciones electromagnéticas, esa máquina fue capaz de captar la radiación electromagnética de los sistemas biológicos, incluso de amplificar o cancelar diversas frecuencias a través de la manipulación de estas frecuencias mediante esta técnica biofísica (Reinhold 1998).

### **2.7.2 Biofísica de la molécula de agua**

En los modelos tradicionales, el agua está formada por un conjunto altamente entrópico de moléculas de agua, polares, que solo forman efímeros puentes de hidrógeno por no más de unos pocos picosegundos (Pauling 1948). Sin embargo también se sabe que la tasa instantánea de agrupamiento es mayor al 95% a 0 ° C y alrededor de 85% a 100 ° C (Suresh y Naik 2000). Esto da lugar a la formación de agrupamientos moleculares o redes esféricas icosaédricas, la mayoría de 280 moléculas, que se descomponen principalmente en partes tetrahédricas u otros prismas formados de conjuntos de 4, 5 y 6 moléculas, propiciadas por la cooperatividad de enlazamiento (Dore 1991). Cabe mencionar que los hexágonos en forma de “bote” y los pentágonos cíclicos, son las estructuras más estables al menos en la fase de gas (Yoshiki 2003).

Los modelos actuales para el comportamiento del agua líquida proponen que las estructuras principales que explican las anomalías químicas y físicas del agua son los agrupamientos icosaédricos de 280 moléculas. Se trata de una red cerrada de moléculas de agua cuya estructura le permite contraerse y expandirse para conservar el equilibrio entre sus puentes de hidrógeno, lo que le da una elevada estabilidad, por lo que también se le llama estructura “metaestable” (Chaplin 2000).

### **2.7.3 Funciones de los agrupamientos moleculares del agua**

Se piensa que estas estructuras juegan un papel importante en la regulación celular ya que se ha encontrado agua estructurada en las cercanías de partes hidrofóbicas de la célula incluyendo membranas y proteínas (Cameron et al. 1997), donde el agua es de baja densidad, con más fuertes puentes de hidrógeno y menos entropía (Wiggins 1997).

Este hecho hace suponer a algunos científicos, que las agrupaciones de moléculas de agua pueden desempeñar diversas funciones regulatorias e intermediarias a nivel molecular; como mediadores alostéricos y de transmisión de señales, ampliando el modelo tradicional de interacción directa entre las estructuras de las moléculas que interactúan. Esto podría esperarse si se considera que las proteínas, carbohidratos y membranas celulares están siempre rodeadas por estructuras estables de agua o agrupamientos moleculares (Royer 1996).

De este modo se propone que las señales, en forma de oscilaciones electromagnéticas, son captadas y transmitidas por los agrupamientos de agua adyacentes a las macromoléculas involucradas (Benveniste 1999). En 1996 se descubre que el agua estructurada en grupos desempeña un papel fundamental en la estructura de las subunidades de las proteínas, ya que ayuda a mantener estables las estructuras primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias a través de los enlaces peptídicos (Royer 1996).

Las moléculas de agua forman un sistema coherente de comunicación electromagnética debido a su estructura bipolar. Por lo tanto, puede ocurrir una polarización de las moléculas de agua como resultado de la bioinformación electromagnética (Endler 1995).

Algunos autores proponen que se puede transmitir la información proveniente de moléculas encargadas de llevar mensajes, como antígenos, hormonas, e incluso ciertos medicamentos, por medios electrónicos (Aissa et al. 1993); es decir, hacer oscilar el agua con frecuencias y patrones provenientes de otras sustancias usando radiofrecuencias como medio de transporte (Sinitsyn et al. 1998).

Se ha demostrado que ondas electromagnéticas de diferentes frecuencias alteran la estructura del agua (Lobyshev et al. 1995, Fesenko y Gluvstein 1995) y se especula que esto es debido a alteraciones orbitales del spin de los protones que forman los átomos de los hexágonos de moléculas de agua (Binhi 1998). Cabe mencionar que estos hexágonos solo pueden ser estables si se encuentran formando las redes icosaédricas ya mencionadas.

La investigación en torno a las propiedades biofísicas del agua avanzará de manera que se tenga respaldo científico para comprender fenómenos nanofarmacológicos como la medicina homeopática y otros fenómenos de naturaleza presumiblemente electromagnética como los llamados biofotones, la acupuntura y los efectos nocivos o terapéuticos de los campos electromagnéticos.

#### **2.7.4 Transferencia de información electromagnética entre sustancias**

En 1988, se descubrió que la información electromagnética procedente de una fuente externa es unida al agua en forma de oscilaciones electromagnéticas, posiblemente en sus agrupaciones moleculares, si vemos a la molécula de agua como un dipolo eléctrico (Del Giudice et al. 1988).

Desde 1993 se demostró que es posible transferir señales electromagnéticas de origen molecular vía circuito electrónico con un amplificador (Aissa et al. 1993). Por ejemplo en pruebas de transferencia de información electromagnética molecular de ácido acético, en el cual la transferencia de información electromagnética facilita un nuevo acercamiento científico a un área específica de la biología, en particular métodos de

diagnóstico médico y terapia. En este estudio se demuestra que transfiriendo la información electromagnética del ácido acético a sales inorgánicas en solución por medio de un amplificador electrónico, las propiedades fisicoquímicas de dichas soluciones con información de este modo, están sujetas a cambios significativos. El efecto de la transferencia de la información puede ser detectada en dos diferentes parámetros de prueba. El pH de soluciones de sales inorgánicas con información del ácido acético decrece leve pero significativamente. En el secado de las sales inorgánicas, son obtenidos y analizados una serie de cristales bajo microscopia electrónica. Esto demuestra que los cristales de las pruebas con información muestran una tendencia pronunciada de incrementar su tamaño y formar conglomerados, dependiendo de la amplificación de la información transferida del ácido acético (Kreisl 1998).

Por otra parte, se reportó la transferencia de la actividad del 4-Forbol-12-beta-miristato-13-acetato (PMA) mediante medios electrónicos (Benveniste 1994). Los neutrófilos fueron colocados a 37 ° C en una bobina conectada a un oscilador electrónico, mientras el PMA fue colocado en otra bobina a temperatura ambiente. El oscilador fue programado a 15 min. para transferir la información electromagnética molecular del PMA, después de este tiempo las células fueron incubadas por 45 min. a 37° C antes de haber medido la producción de los metabolitos reactivos al oxígeno. En 20 experimentos en ciego, el PMA transferido electrónicamente indujo la producción de metabolitos reactivos al oxígeno (ROM). Los ROM no fueron inducidos cuando: 1) El 4-alfa-forbol12,13-didecanoato (un PMA análogo inactivo) fue transferido; 2) El oscilador fue apagado; 3) Cuando los inhibidores como la superóxido dismutasa o la proteína quinasa C fueron agregados a las células antes de la transferencia. Estos resultados sugieren que las moléculas PMA emiten señales electromagnéticas que pueden ser transferidas a neutrófilos humanos por medios biofísicos artificiales de tal manera que se puede inferir la base electromagnética que poseen todas las moléculas (Thomas et al. 1995)

En 1995 dos estudios independientes, realizados en Australia e Italia, demostraron que la información electromagnética puede ser analizada y transferida mediante un aparato de bioresonancia (BICOM). La metamorfosis de anfibios (*Rana temporaria*) de estadios inmaduros puede ser reducida, transfiriendo información de una solución altamente

concentrada de la hormona tiroxina (1.25 mM) a un acuario en un número de pruebas paralelas. Esto indica que al estar presente en el agua del acuario un proceso físico electromagnético de dicha hormona aún en ausencia su estructura química, afecta considerablemente el desarrollo normal de este organismo (Endler et al. 1995).

## **2.8 Bacterias patógenas**

### **2.8.1 *Helicobacter pylori***

En 1970, el médico australiano Robin Warren realizó diversas investigaciones clínicas e histológicas, directamente de muestras de biopsias gástricas que el mismo colectó de pacientes con gastritis crónica, dándose cuenta mediante ciertas técnicas que realizaba a los tejidos, que existía en ellos una bacteria que predominaba en todas las lesiones histológicas de gastritis (Warren 2002).

Tiempo después, en el año 1981, conoció al médico australiano Barry Marshall, con quien complementó sus trabajos de investigación, para así llegar a la conclusión de que en muestras de mucosa gástrica normal y sana, no estaba presente la bacteria, sino que solamente se podía observar en mucosa gástrica inflamada. Marshall continuó su apoyo a Warren al tratar de aislar y cultivar dicha bacteria, a la cual se le dio el nombre de *Campylobacter pylori*, por su parecido morfológico con dicho género, y por la localización primordial en la región pilórica (Pajares y Gisbert 2006, Marshall 2002).

La nueva bacteria había sido incluida en la especie *Campylobacter* de forma provisional. Con los miembros del grupo compartía la morfología espiral, la capacidad de microaerofilia, la posibilidad de crecimiento en el mismo medio de cultivo y otras características bioquímicas. Difierían, sin embargo, en dos rasgos esenciales: la presencia de múltiples flagelos en uno de los extremos y su gran contenido en la enzima ureasa (Jones et al. 1985).

Por esta razón, se llevaron a cabo una serie de investigaciones y análisis moleculares, encabezadas por Goodwin, para por fin demostrar que *Campylobacteri pylori* era realmente un miembro diferente que no pertenecía al género *Campylobacter*, sino que

presentaba características morfológicas y estructurales bioquímicas más parecidas al nuevo género *Helicobacter*.

#### 2.8.1.1 Generalidades

*H. pylori* es una bacteria patógena gram negativa, pleomórfica, es decir, que usualmente se encuentra en forma de espiral (de donde deriva su nombre), pero que puede ser convertida en células cocoides, bajo un ambiente hostil (Cervantes 2006).

Dentro de su mecanismo, *H. pylori* produce un biofilm o biopelícula, el cual consiste en una matriz de polisacáridos, que le ayudan a la bacteria a sobrevivir en ambientes desfavorables y a resistir la acción de los antibióticos al no permitir la entrada de algunos compuestos. Diversos trabajos demuestran la importancia de este en la supervivencia y colonización en el estómago (Carron et al. 2006, Cammarota et al. 2012, Souto y Vieira 2008).

#### 2.8.1.2 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *H. pylori* se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de *H. pylori* (Marshall y Warren, 1984)

<b>Dominio</b>	<b>Filo</b>
<b>Filo</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Epsilonbacteria
<b>Orden</b>	Campylobacterales
<b>Familia</b>	Helicobacteraceae
<b>Género</b>	<i>Helicobacter</i>
<b>Especie</b>	<i>pylori</i>

### 2.8.1.3 Epidemiología

Se estima que más del 50% de la población a nivel mundial está infectada por *H. pylori*, sin embargo, la prevalencia de infección depende de factores socioeconómicos y de la infraestructura sanitaria. Se ha observado una gran variación entre las diversas zonas estudiadas, existiendo una clara diferenciación entre los países desarrollados y aquellos que están en vías de desarrollo (Pueyo et al. 1998).

Se calcula que en países desarrollados la prevalencia de infección es del 10 al 40% y esta cifra se incrementa hasta un 80 ó 90% en países en vías de desarrollo (Pérez et al. 2004, Taylor y Parsonnet 1995). En el caso de México, se ha reportado una seroprevalencia del 66% y que la infección se adquiere a edades tempranas, alcanzando un 80% en adultos jóvenes entre 18 y 20 años de edad, con una tasa de incremento del 5% anual durante los primeros 10 años de vida (Torres et al. 1998). Así mismo, países en vías de desarrollo, como Nigeria o India, presentan elevados porcentajes de prevalencia (arriba del 80%). Por el contrario, países desarrollados como Francia, llegan a presentar un 25% de prevalencia (Holcombe et al. 1992; Graham et al. 1991).

### 2.8.2 *Serratia marcescens*

*S. marcescens* es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo, oxidasa negativo; perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, que crece abundantemente en agar chocolate, agar sangre, agar McConkey, produce colonias que pueden ser pigmentadas, ya que genera un pigmento rojo llamado Prodigiosina (Berthelot 1999).

*S. marcescens* puede encontrarse en la flora intestinal del hombre y animales, en el ambiente y en reservorios pobres en nutrientes como el agua potable, cañerías y llaves, así como también en insumos hospitalarios como jabones, antisépticos, etc. Su adquisición es mayoritariamente nosocomial, especialmente en unidades de cuidados intensivos, siendo secreciones respiratorias, heridas y orina, sitios frecuentes de colonización (Dossi 2002).



*S. marcescens* puede provocar conjuntivitis, queratitis e infecciones en heridas, riñones y vías urinarias, así como infecciones respiratorias, meningitis y endocarditis. Esta bacteria afecta especialmente a pacientes hospitalizados y a pacientes que tienen la inmunidad disminuida por enfermedades sistémicas o tratamientos médicos inmunosupresores (Dossi 2002).

Las infecciones causadas por *S. marcescens* no pueden ser tratadas debido a la resistencia a una variedad de antibióticos, incluyendo ampicilina y cefalosporinas de primera y segunda generación. Dado que el efecto de los antibióticos lactámicos depende del tiempo durante el cual las bacterias están expuestas a los antibióticos los datos sugieren que si se combinan un  $\beta$ -lactámico y un aminoglucósido, el aminoglucósido induce una rápida destrucción y reducción del inóculo mientras que el antibiótico  $\beta$ -lactámico impide el rebrote entre las dosis de aminoglucósidos (Hejazi 1997).

### **2.8.3 *Listeria monocytogenes***

*Listeria monocytogenes* se ha considerado durante muchos años un patógeno de animales, su papel significativo como patógeno humano transmitido por alimentos solo se hace evidente a partir de 1980, cuando comienza a aparecer en la literatura informes documentados de brotes de listeriosis, detectados por consumo de alimentos contaminados (Schlech 1983). Hoy en día, *Listeria monocytogenes* se considera uno de los agentes más importantes de enfermedades de transmisión alimentaria (Rocourt 1997).

*L. monocytogenes* es un bacilo Gram-positivo, anaerobio facultativo, responsable de la mayor parte de las infecciones por *Listeria* que afectan al hombre. Aunque *L. monocytogenes* posee un potencial zoonótico evidente, también es un importante contaminante medioambiental (López 2004).

Se han identificado diversos determinantes moleculares de virulencia que juegan un papel en la infección celular por *L. monocytogenes*, estos determinantes de virulencia comprenden, entre otros, las internalinas, la listeriolisina O, la proteína Act A, dos fosfolipasas, una metaloproteasa y una hidrolasa de sales biliares (Dussurget 2002).

### **2.8.3.1 Listeriosis**

La listeriosis es una infección grave causada por consumir alimentos contaminados con *L. monocytogenes*, la cual recientemente ha sido reconocida como un serio problema de salud pública en los Estados Unidos mientras que en México, las fallas en los sistemas de vigilancia epidemiológicos son causa de información imprecisa sobre la incidencia de la listeriosis y sobre su caracterización como ETA. La enfermedad afecta principalmente a personas de edad avanzada, mujeres embarazadas, recién nacidos y adultos que tienen el sistema inmunitario debilitado. Sin embargo, también puede afectar a las personas que no presentan estos factores de riesgo (CDC 2012).

La tasa de mortalidad de la listeriosis depende de que tan avanzado esté la infección por *L. monocytogenes* que suele causar meningitis, la tasa de mortalidad global puede ser tan alta como el 70% mientras que en mayo las tasas de septicemia alcanzan hasta el 50%, y para perinatal/neonatal las tasas de infecciones podrá superar el 80% (FDA 2007).

### **2.8.3.2 Tratamiento**

Hay diversos esquemas para el tratamiento de una infección causada por *H. pylori*. Sin embargo, un tratamiento óptimo aún no ha sido definido, y no existe un tratamiento con solo antibiótico que pueda erradicar. La multiplicidad de fármacos, la dosis y la duración del tratamiento, así como las pautas para erradicarlo es muy diversa, por lo que la decisión sobre escoger uno u otro fármaco para el tratamiento es difícil. Históricamente, una combinación de varios antibióticos, dos o tres, ha sido usada para la erradicación de la infección. Estos incluyen claritromicina, amoxicilina, metronidazol, tetraciclina, fluoroquinolones, tinidazol, entre otros. Estos antibióticos, generalmente se usan en

combinaciones con agentes antisecretorios, tales como bombas inhibitorias de protones, o con sales de bismuto. Varias combinaciones de estos agentes han demostrado ser efectivos con diferentes tasas de eficacia en la erradicación y tolerabilidad (Garza et al. 2014). La asociación de metronidazol con bismuto o metronidazol, bismuto y amoxicilina o tetraciclina son las que más se utilizan. Su duración oscila entre los 7 y 28 días aproximadamente. Otros tratamientos utilizan la combinación de un antibiótico con un inhibidor de la bomba de protones, como la combinación de amoxicilina y omeprazol. Esta ha presentado una eficacia de entre el 60-70%. Actualmente se utilizan terapias triples asociando un antisecretor potente con dos antibióticos tal como el omeprazol, con claritromicina y amoxicilina o metronidazol o tinidazol (Lara et al. 2003; Zullo et al. 2003; Sanjuro et al. 1999 y Bazzoli 2001).

La droga de elección para el tratamiento de *H. pylori*, y también es empleado para el tratamiento de infecciones por *S. marcescens* y *L. monocytogenes* es el antibiótico ceftriaxona, consiste en un antibiótico bactericida, de acción prolongada para uso parental, de la clase de las cefalosporinas de tercera generación, por lo que tiene acciones de amplio espectro en contra de organismos gram positivos y gramnegativos. El anillo beta-lactámico es parte de la estructura de las cefalosporinas, por lo tanto, la ceftriaxona es un antibiótico beta-lactámico. El modo de acción de estos antibióticos es la inhibición de la síntesis de la pared celular de las bacterias, específicamente por unión a unas proteínas bacterianas llamadas “proteínas ligandos de la penicilina (PBS)”

Este antibiótico se usa con frecuencia en combinación con antibióticos macrólidos y/o aminoglucósidos para el tratamiento de neumonía comunitaria y nosocomial. Es también el primer tratamiento de la meningitis bacteriana.

Si la infección ocurre durante el embarazo, los antibióticos que se administran de manera inmediata a madres embarazadas por lo general pueden prevenir las infecciones del feto o del recién nacido. Los bebés con listeriosis reciben los mismos antibióticos hasta que los médicos estén seguros del diagnóstico. Incluso con un tratamiento inmediato, algunas infecciones causan la muerte en personas de edad avanzada o con otros problemas de salud (CDC 2012).

## **2.9 Ceftriaxona**

La ceftriaxona se usa para tratar determinadas infecciones ocasionadas por bacterias, como la gonorrea (una enfermedad de transmisión sexual) la enfermedad inflamatoria pélvica (infección de los órganos reproductores femeninos que puede causar infertilidad), la meningitis (infección de las membranas que rodean el cerebro y la médula espinal como es el caso de la listeriosis) y las infecciones de pulmones, oídos, piel, vías urinarias, sangre, huesos, articulaciones y abdomen. La ceftriaxona pertenece a una clase de medicamentos llamados antibióticos derivados de la cefalosporina (Marshall 1999).

### 3. JUSTIFICACION

Las infecciones ocasionadas tanto por *E. histolytica* como por *H. pylori*, *S. marcescens* y *L. monocytogenes* son de distribución mundial, principalmente en países en vías de desarrollo, y debido a que actualmente no se cuenta con un tratamiento efectivo contra estos microorganismos patógenos, aunado a los recientes reportes que indican resistencia de estos microorganismos a las drogas de elección, además considerando los efectos secundarios indeseables que provocan en los pacientes, en este trabajo evaluamos la actividad biológica *in vitro* del agua electrotransferida con cada una de las drogas de elección para cada microorganismo patógeno seleccionado (metronidazol para *E. histolytica*) y ceftriaxona (para *H. pylori*, *S. marcescens* y *L. monocytogenes*), dicha droga es electrotransferida al agua empleando el equipo de bioresonancia BICOM®-2000 mediante el programa sustancia-sustancia. En este trabajo se evaluó el efecto de las drogas electrotransferidas al agua mediante bioensayos para determinar el potencial amebicida del agua electrotransferida con metronidazol, así como poder determinar el potencial anti-*H. pylori*, anti-*S. marcescens* y anti-*L. monocytogenes* de la ceftriaxona electrotransferida al agua.

#### 4. HIPÓTESIS

Es posible que se efectúe la electrotransferencia de información electromagnética de drogas antimicrobianas al agua y que esta presente actividad inhibitoria sobre *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS, *Helicobacter pylori*, *Serratia marcescens* y *Listeria monocytogenes*.

#### 5. OBJETIVOS

##### Objetivo general

Evaluar el potencial antimicrobiano de la información electromagnética proveniente del metronidazol y ceftriaxona electrotransferidas al agua, sobre el crecimiento de *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS, *Helicobacter pylori*, *Serratia marcescens* y *Listeria monocytogenes*.

##### Objetivos particulares

- Estandarizar la cinética del crecimiento axénico *in vitro* de *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS, *Helicobacter pylori*, *Serratia marcescens* y *Listeria monocytogenes*.
- Determinar la dosis del metronidazol y de la ceftriaxona que se van a electrotransferir al agua.
- Realizar la electrotransferencia de la información electromagnética del metronidazol y ceftriaxona al agua desionizada mediante el equipo BICOM®.
- Evaluar el potencial antimicrobiano del agua electrotransferida con la información electromagnética del metronidazol
- Evaluar el potencial antibacteriano del agua electrotransferida con la información electromagnética de la ceftriaxona sobre *Helicobacter pylori*, *Serratia marcescens* y *Listeria monocytogenes*.

## 6. MATERIALES Y METODOS

### 6.1 Material biológico

-Trofozoítos de *Entamoeba histolytica* (Cepa HM1-IMSS).

- *Helicobacter pylori* (ATCC 43504)

- *Serratia marcescens*

- *Listeria monocytogenes*

#### a) *Entamoeba histolytica* cepa HM1-IMSS

Mantenimiento: Se realizaron resiembras sucesivas de *E. histolytica* HM1-IMSS en medio MPT el cual se encontró en volumen de 10 mL en tubos con tapón de rosca de 16 x 150 mm, se adiciono con 0.1 mL de solución de penicilina-estreptomicina y 1.0 mL de suero bovino, inoculando  $2 \times 10^4$  trofozoítos/mL, posteriormente de incubó a 37°C por 72 horas, antes de cada resiembra los cultivos se observaran en un microscopio invertido para comprobar el buen estado de las amibas y el cultivo que muestre mejor crecimiento y mejor aspecto, se colocó en agua-hielo por 15 min. para despegar las células adheridas al tubo, se agito 10 veces por inversión del tubo y se procedió a determinar el número de trofozoítos/mL empleando una cámara de Neubauer. Las resiembras y bioensayos se realizaron cuando las células se encontraron a la mitad de la fase logarítmica de crecimiento.

Cinética de crecimiento: Se inocularon 15 tubos conteniendo un volumen de 10 mL del medio de cultivo MPT con, 0.1 mL de solución de penicilina-estreptomicina y 1.0 mL de suero bovino y un inóculo de  $2 \times 10^4$  células/mL. Se incubo a 37°C y cada 24 h se determinó el número de trofozoítos de 3 tubos de cultivo hasta el día 5 de incubación, la cuantificación del número de células se realizó colocando en agua-hielo por 15 min. los tubos para despegar las células adheridas al tubo, se agito 10 veces por inversión del

tubo y se procedió a determinar el número de trofozoítos/mL empleando una cámara de Neubauer.

## **b) Bacterias patógenas**

### ***Listeria monocytogenes***

Mantenimiento: A partir de una cepa que se mantiene en refrigeración a 4°C, se hacen resiembras sucesivas en tubos de 13 x 100 mm de borosilicato con tapón de rosca, que contenían 4mL de MPT-Caldo a los cuales se les inocula con 30µL de la cepa, enseguida se incuban a 37°C por 24h.

Cinética de crecimiento: Se dispone de 10 tubos de borosilicato de 13 x 100 mm con tampón de rosca, los cuales contienen 4mL de MPT-Caldo, se inoculan con 30µL de *L. monocytogenes*, la cual previamente se reactivó por tres resiembras consecutivas con el mismo volumen de inóculo, enseguida se incuban a 37°C y cada hora se realizan las lecturas de absorbancia a 635nm durante un lapso de 14h aproximadamente, se registra y grafica cada lectura.

### ***Helicobacter pylori***

Mantenimiento: A partir de una cepa que se mantiene en refrigeración a 4°C, se hacen resiembras sucesivas en tubos de 13 x 100 mm de borosilicato con tapón de rosca, que contenían 4mL de MPT-Caldo a los cuales se les inoculó con 30µL de la cepa, enseguida se incuban a 37°C por 24h.

Cinética de crecimiento: Se dispone de 10 tubos de borosilicato de 13x100 mm con tampón de rosca, los cuales contienen 4mL de MPT-Caldo, se inoculan con 100µL de *Helicobacter pylori*, la cual previamente se reactivó por resiembras consecutivas con el mismo volumen de inóculo, enseguida se incuban a 37°C y cada hora se realizan las lecturas de absorbancia a 635nm durante un lapso de 19h aproximadamente, se registra y grafica cada lectura.



### ***Serratia marcescens***

Mantenimiento: A partir de una cepa que se mantiene en refrigeración a 4°C, se hacen resiembras sucesivas en tubos de 13 x 100 mm de borosilicato con tapón de rosca, que contenían 4mL de MPT-Caldo a los cuales se les inoculó con 30µL de la cepa, enseguida se incuban a 37°C por 24h.

Cinética de crecimiento: Se dispone de 10 tubos de borosilicato de 13 x 100 mm con tampón de rosca, los cuales contienen 4 mL de MPT-Caldo, se inoculan con 100µL de *S. marcescens*, la cual previamente se reactivó por resiembras consecutivas con el mismo volumen de inóculo, enseguida se incuban a 37°C y cada hora se realizan las lecturas de absorbancia a 635nm durante un lapso de 19h aproximadamente, se registra y grafica cada lectura.

## **6.2 Preparación de la solución madre de metronidazol y ceftriaxona**

### **a) Metronidazol:**

Se dispuso del antibiótico Metronidazol (Sigma-Aldrich) y empleando la báscula analítica, se pesaron 20 mg de dicha droga colocándose directamente en un tubo cónico de 50 mL, posteriormente se agregaron 20 mL de agua bidestilada desionizada estéril por filtración, enseguida se agitó vigorosamente hasta deshacer todo grumo y corroborar que no hubiese precipitados, se etiquetó y guardó en refrigeración a 4°C. Obteniendo una concentración final de metronidazol de 1mg/mL.

### **b) Ceftriaxona:**

Se dispuso del antibiótico ceftriaxona y empleando la báscula analítica, se pesaron 20 mg de ceftriaxona y se colocó en un tubo cónico de 50 mL, posteriormente se agregaron 20 mL de agua bidestilada desionizada (por filtración) en el tubo cónico para posteriormente, agitar vigorosamente para disolver el antibiótico con el agua y se verificó que no hubiesen precipitados; posteriormente se etiquetó correctamente el tubo

y se guardó en refrigeración a 4°C. Con esto se obtuvo la ceftriaxona a una concentración de 1mg/mL.

### **6.3 Transferencia de información electromagnética al agua a partir de metronidazol y ceftriaxona**

Se utilizaron 6 frascos de vidrio estériles de boca ancha con tapa metálica de rosca y capacidad de 30 mL para realizar la transferencia de información electromagnética.

Primeramente, se colocó el frasco de metronidazol en el contenedor de entrada al aparato de bioresonancia BICOM 2000 modelo 4.4 (bio-comunicación) Regumed Serie: SN202057299. Se seleccionó el programa # 196, mismo que es especificado por el fabricante para transferencia de información entre sustancias y no lo determina el operador del equipo. Después se colocó en el contenedor de salida del aparato otro frasco con 9 mL de agua desionizada bidestilada filtrada previamente etiquetada como Agua 50 y agitada durante 5 s. aproximadamente. Se ajustó la amplificación a un valor de 50 (u.a= unidad de amplificación de la onda) que es un parámetro predeterminado por el equipo, y se encendió el programa durante 15 min. De igual manera se realizó una segunda transferencia con otro frasco con 9 mL de agua desionizada bidestilada filtrada con filtro millipore de 0.22 mm de diámetro previamente etiquetada como Agua 1000 y también se agitó. Se ajustó la amplificación a un valor de 1000 (este valor representa la unidad de amplificación de la onda y es también predeterminado por el fabricante y no lo determina el operador del equipo) y se encendió el programa durante 15 min.

Se ajustó la amplificación, se programó el ciclo de electrotransferencia y se encendió el programa durante 15 min.

Al terminar las transferencias se aislaron los frascos de la luz y se almacenaron a temperatura ambiente aproximadamente 1 h antes de su uso. Un tercer tratamiento fue transferir la información de agua desionizada estéril (entrada) hacia una muestra de la misma (salida) previamente agitada.

## **6.4 Bioensayos**

### **6.4.1 Evaluación del efecto de la transferencia de información del metronidazol-agua sobre cultivos de *E. histolytica***

Para evaluar el efecto de las diferentes amplificaciones transferidas del metronidazol al agua, se procedió de la siguiente manera:

Al tercer día de incubación de la cepa, se agregaron a 27 tubos de 13 x 100 con 9 mL de medio MPT un inóculo de 10,000 células/mL de la cepa de *Entamoeba histolytica*; 0.5 mL de suero bovino; 0.05 mL de antibiótico penicilina-estreptomicina y 1.0 mL de metronidazol.

Se tomó 1.0 mL de agua transferida de cada uno de los tratamientos respectivamente marcados y se agregó en tres eventos independientes por triplicado a cada uno de los tubos que contengan la cepa de *Entamoeba histolytica* respectivamente marcados con los mismos componentes anteriormente mencionados.

Como control negativo se utilizaron los 27 tubos con la cepa de *E. histolytica* sin agregar ningún tratamiento, pero incluyendo los demás componentes (suero 1% y antibiótico 0.1%).

Por último, se incubaron los tubos a 37° C durante 72 h y se realizó el conteo celular en el tiempo de máximo crecimiento para determinar el nivel de sobrevivencia de la cepa para cada uno de los tratamientos.

### **6.4.2 Evaluación del efecto de la transferencia de información de la ceftriaxona -agua sobre cultivos de bacterias patógenas**

A las 18 horas de incubación se inoculó la bacteria sobre los tubos de ensayo que contenían ya los respectivos tratamientos, del control (solo medio MPT), del electrotransferido (agua con información proveniente de la ceftriaxona) y del control positivo que fue la droga ceftriaxona. La cantidad de inóculo añadida fue de 100µL de cada bacteria (*H. pylori*, *S. marcescens* y *L. monocytogenes*) se incubaron los tubos por

18 horas para posteriormente leer los resultados al espectrofotómetro y posteriormente proceder a realizar el bioensayo para la determinación de las UFC/ mL.

#### **6.4.3 Determinación de UFC/mL**

Se determinaron las diluciones a realizar, se procedió a preparar el agar MPT pesando todos los ingredientes de este medio en la balanza analítica, se preparó solución salina al 0.85% en tubos de ensayo para realizar en ellos las diluciones. Después se seleccionó el tubo de inóculo a utilizar de cada tratamiento y de este se tomó 1 ml de inóculo para agregar al tubo de la dilución -1 para así ir pasando 1ml a cada dilución seriada (-2, -3, -4, hasta -12). Ya realizadas las diluciones se agregó 1ml a la caja Petri del tubo de la dilución y después se agregó el agar MPT para después agitar en forma de ocho, ocho veces y dejar solidificando para después incubar durante 18 horas y leer resultados contando el número de colonias observado en cada caja con su dilución correspondiente, en donde para cada dilución de la -1 a la -12 se contó con tres cajas Petri.

#### **6.4.4 Análisis estadístico**

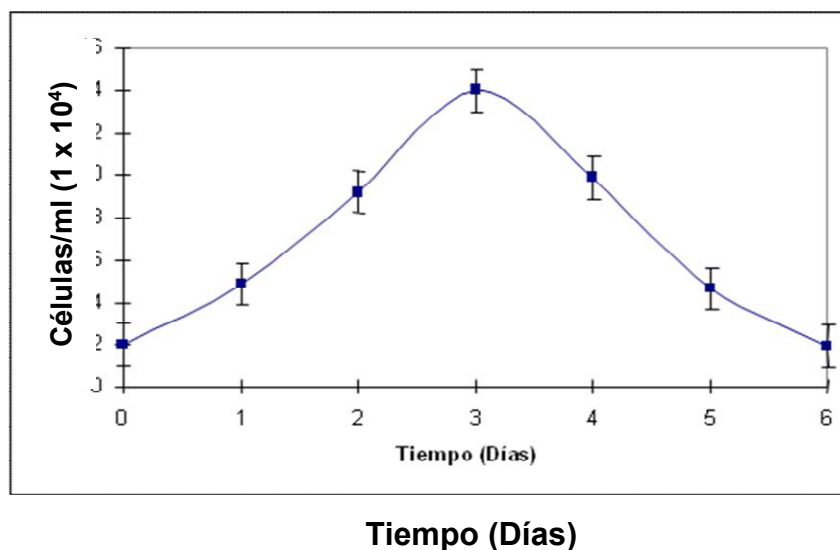
Los datos para determinar la acción biológica en el crecimiento de *E. histolytica* y bacterias patógenas se utilizó un diseño experimental estadístico completamente al azar en donde los datos de cuantificación se sometieron a un Análisis de Varianza mediante el paquete de software estadístico SPSS versión 17.0, para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos utilizados ( $P < 0.05$ ).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 *E. histolytica*

#### Cinética de crecimiento

Se realizó una cinética de crecimiento de *E. histolytica* que se observa en la Figura 1, el cultivo de partida consistió en 20,000 células/mL, a partir del cual se puede apreciar que no existe una fase de adaptación de las células al medio de cultivo, sino que se presenta un crecimiento exponencial durante los primeros tres días de incubación en el medio de cultivo MPT. Al analizar la fase de crecimiento logarítmico es posible ubicar la mitad de tal fase a las 48 h de incubación. Al término de la fase logarítmica se alcanzó un máximo número de células de  $1.4 \times 10^5$  células/mL. Posteriormente no se observó una fase estacionaria propiamente, sino un decaimiento paulatino del número de células a partir de esta cifra hasta alcanzar la muerte en su totalidad.

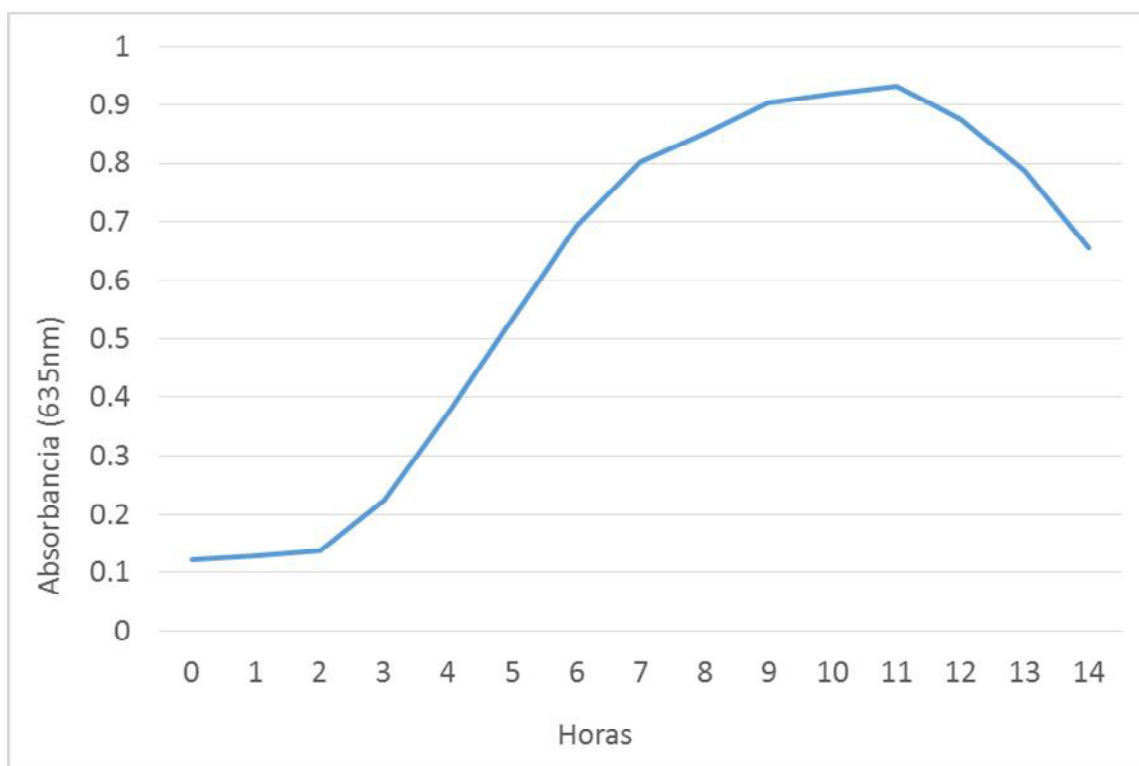


**Figura 1. Cinética de crecimiento de *E. histolytica*.** Se observa el incremento del número de células expresadas en factores de  $10^4$  células/mL de *E. histolytica* conforme pasa el tiempo de incubación a  $37^\circ \text{C}$ , expresado en días. Los conteos se realizaron cada 24 h por triplicado y corresponden a cada punto en la gráfica.

## 7.2 Bacterias patógenas

### 7.2.1 *Serratia marcescens*

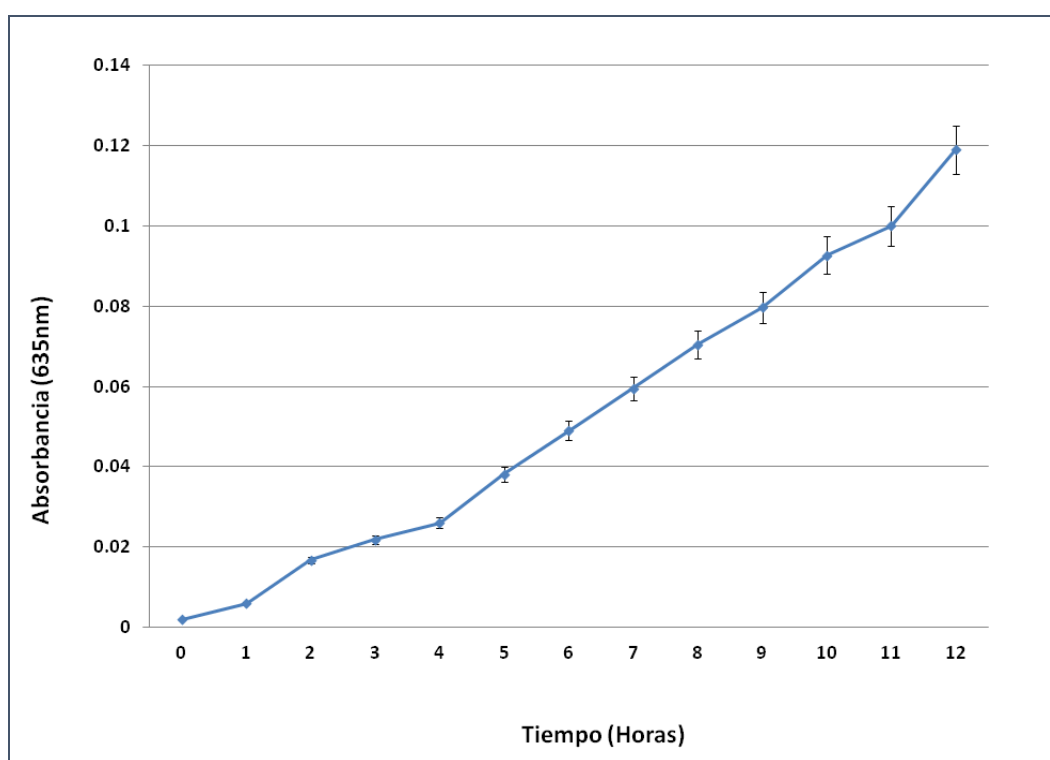
En la figura 2 se observa la cinética de crecimiento de *S. marcescens*, en la cual se observa una fase de adaptación celular durante las dos primeras horas, a partir de esta hora y hasta la hora 7 se observa una franca fase logarítmica, a partir de las 8 horas de incubación se observa crecimiento lento y seguido de una fase estacionaria y posteriormente a partir de la hora 11 se observa fase de muerte celular o decaimiento celular.



**Figura. 2. Cinética de crecimiento de *S. marcescens*.** En esta figura se muestra primeramente una fase de adaptación celular, seguida de una intensa fase exponencial, la cual da inicio en la hora 2 y empieza a decrecer en la hora 11.

### 7.2.2 *H. pylori*

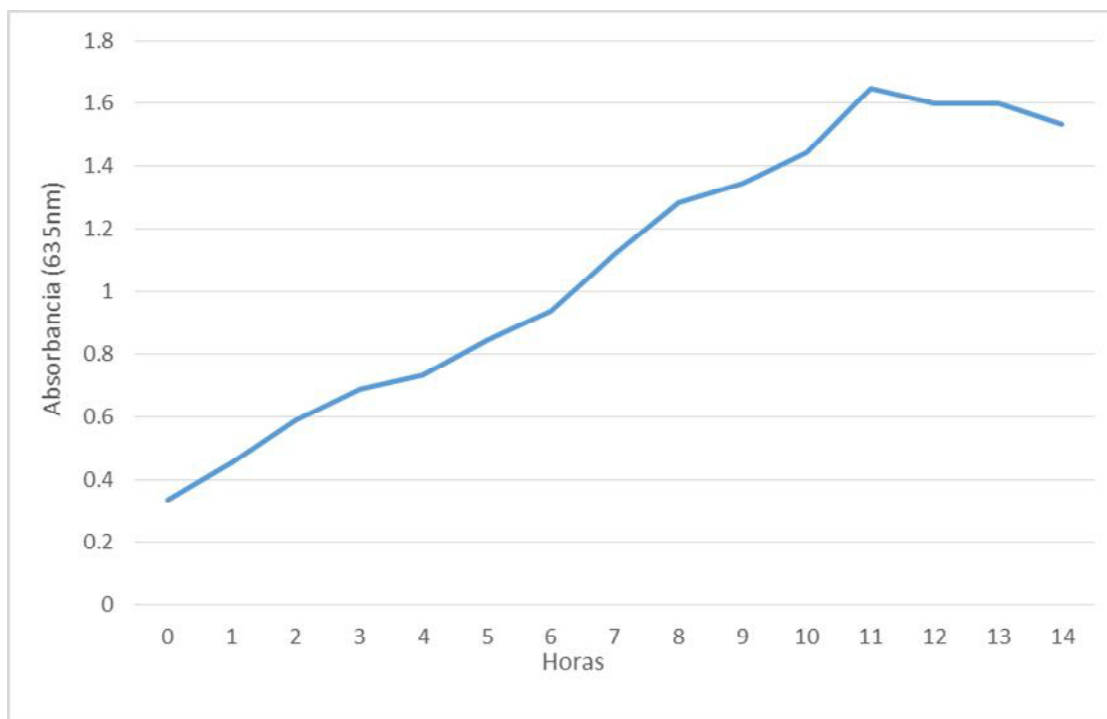
En la figura 3 se muestra la cinética de crecimiento de *H. pylori*, durante la primera hora de incubación se observa ligero crecimiento y posteriormente se observa la fase logarítmica, la cual se le dio seguimiento hasta la hora 12 de incubación, sin apreciar la fase estacionaria; se observa diferencia significativa entre los puntos de lectura, indicándonos que a las doce horas de incubación es factible trabajar con el cultivo de *H. pylori*. Cada punto graficado corresponde a tres eventos independientes por triplicado.



**Figura 3. Cinética de Crecimiento de *H. pylori*.** En esta figura se muestra una fase exponencial, desde el inicio de la cinética, en esta cinética sólo se aprecia la fase logarítmica, lo cual indica el buen estado del cultivo de *H. pylori*.

### 7.2.3. *L. monocytogenes*

En la Figura 4 se observa la cinética de crecimiento de *L. monocytogenes* en donde se aprecia que desde la hora cero inicia la fase logarítmica la cual termina hasta la hora 11, a partir de esta hora se aprecia un paulatino deceso de la absorbancia.



**Figura 4. Cinética de crecimiento de *L. monocytogenes*.** En esta figura se muestra una fase exponencial, la cual da inicio desde la hora 0, no se observó fase de adaptación celular, la fase exponencial terminó en la hora 11, en lo cual de la hora 11 a la hora 14 se observa la fase de muerte celular.



### 7.3 Bioensayos

#### 7.3.1. Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia del metronidazol-H<sub>2</sub>O sobre *E. histolytica*

En la Figura 5 se muestran las barras que indican el crecimiento celular de *E. histolytica* (cel/mL) cultivado en presencia de metronidazol y agua conteniendo el electrotransferido del metronidazol, el cultivo control presentó un rendimiento de 89,584 cel/mL. Se observa que el control positivo metronidazol sí inhibió totalmente el rendimiento de *E. histolytica*, igualmente con el metronidazol electrotransferido al agua, en donde se observa que hay una inhibición del 100% del crecimiento de *E. histolytica*.

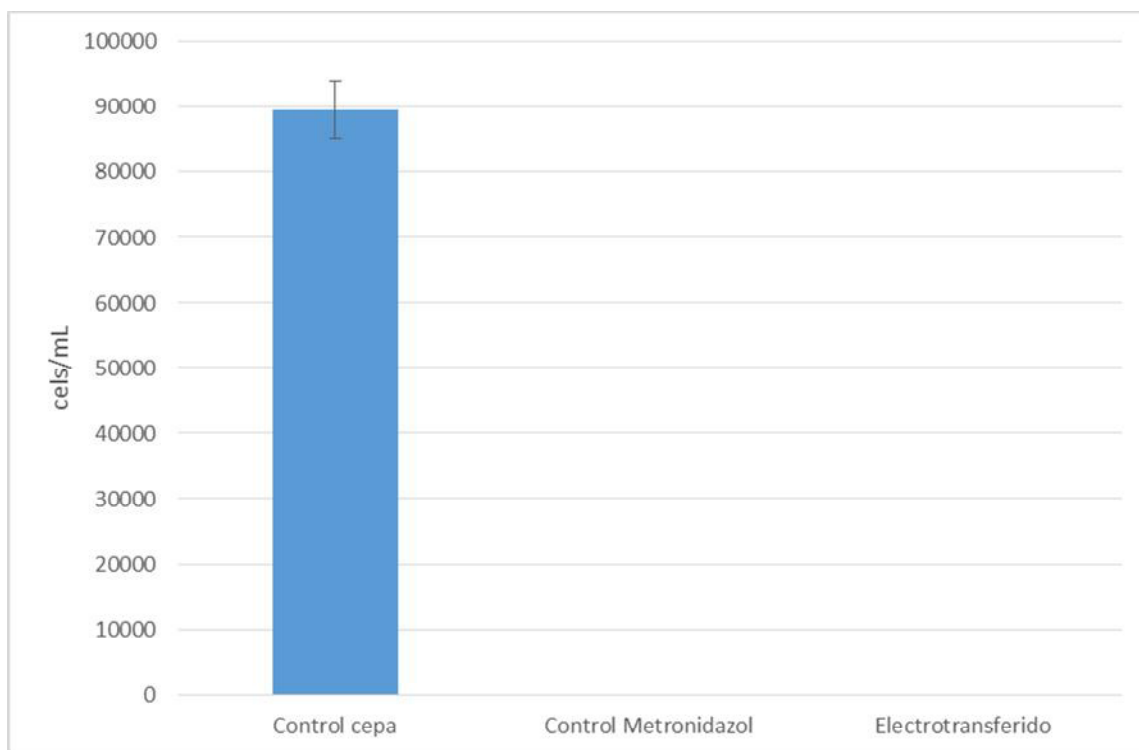


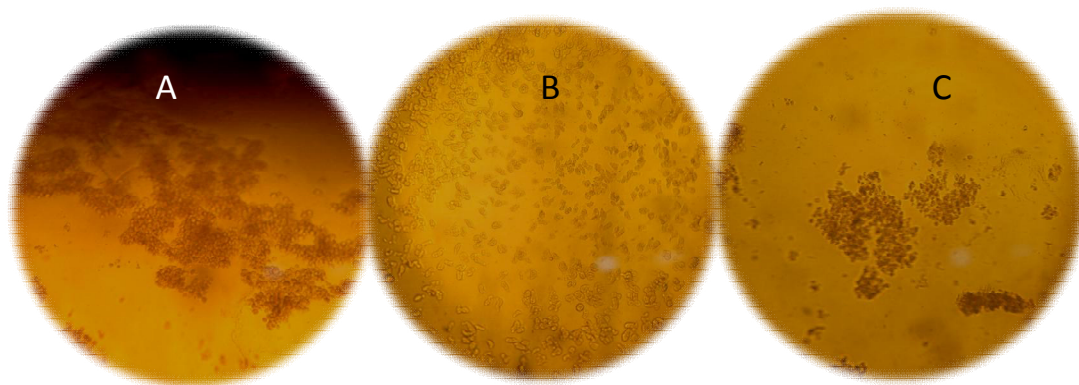
Figura 5. Bioensayo de electrotransferencia del Metronidazol-H<sub>2</sub>O sobre *E. histolytica*.

En la Tabla 2 se describe el aspecto celular de *E. histolytica* cultivado en presencia del metronidazol (1 mg/mL) y del metronidazol electrotransferido al agua.

**Tabla 2. Bioensayo del efecto de la electrotransferencia del Metronidazol en *E. histolytica***

Tratamiento	Cels/mL	Aspecto celular	Días de incubación
<b>Control</b>	89,584	Trofozoítos pleomórficos y móviles adheridos al vidrio.	3
<b>Metronidazol 1mg/mL</b>	0	Aspecto esférico e agregados o racimos despegados del vidrio	3
<b>Metronidazol electrotransferido</b>	0	Aspecto esférico y agregados o racimos despegados del vidrio	3

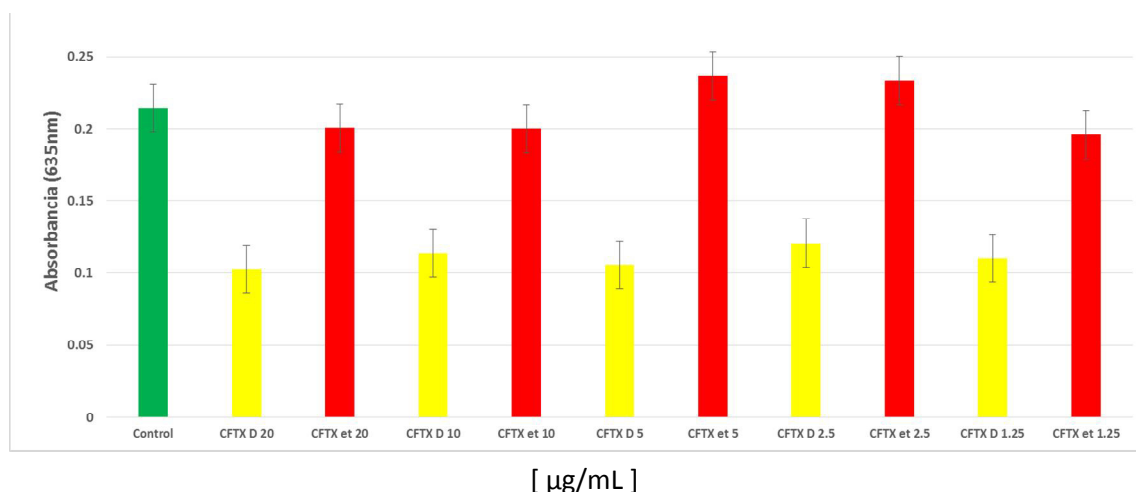
En la figura 6 se observan el aspecto celular de *E. histolytica* al microscopio óptico, en B se observa el cultivo normal, células aderidas al vidrio, de aspecto pleomorfo y móviles, en A se observa el aspecto de *E. histolytica* pero que fue cultivada en presencia de agua electrotransferida con la información o propiedades del metronidazol, en C se observa el aspecto de *E. histolytica* en presencia de la droga metronidazol a una concentración de 1 mg/mL.



**Figura 6. Microscopía del Bioensayo de electrotransferencia en *E. histolytica*.** Se observa el aspecto microscópico de *E. histolytica* cultivado en presencia de metronidazol y agua conteniendo la información electromagnética del metronidazol.

### 7.3.2. Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia del ceftriaxona (1mg/mL)-H<sub>2</sub>O sobre *H. pylori*.

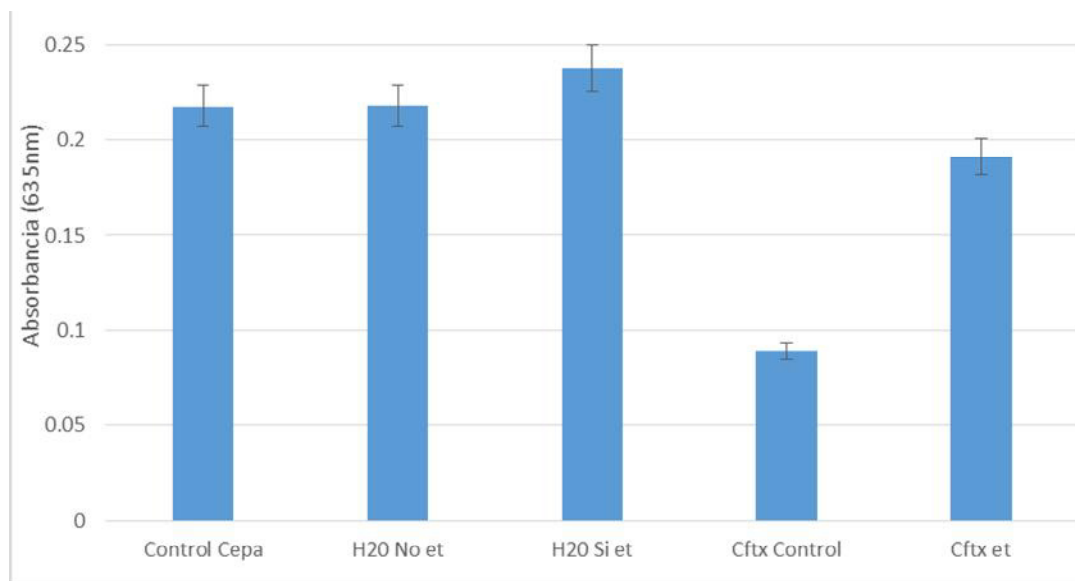
Se evaluaron cinco dosis de ceftriaxona directamente, así como agua conteniendo el electrotransferido de ceftriaxona a 20, 10, 5, 2.5 y 1.25 µg/mL. Los resultados se observan en la Figura 7. Estos resultados nos indican que la inhibición de *H. pylori* por ceftriaxona directa (barras amarillas) sí inhibe el cultivo, pero no hay diferencia entre las cinco dosis evaluadas, en las barras rojas se observa que las dosis electrotransferidas no inhibieron el cultivo de *H. pylori*. Por lo cual se observa que la inhibición no está directamente proporcional a la dosis evaluada.



**Figura 7. Bioensayo de Electrotransferencia sobre *Helicobacter pylori*.** Se puede observar que el efecto del electrotransferido que almacenó la información electromagnética de la Ceftriaxona no causó inhibición en el crecimiento de *H. pylori*, (barras rojas), con el antibiótico Cftx aplicado a los cultivos se observó una clara inhibición del crecimiento de *H. pylori* ya que es el antibiótico en sí inhibió el cultivo (barras amarillas).

De acuerdo a los resultados obtenidos, la actividad antibacteriana de la ceftriaxona sobre *H. pylori*, se observó que la droga ceftriaxona a las cinco dosis evaluadas inhibió aproximadamente el 50% de rendimiento celular del cultivo de *H. pylori*, la inhibición no es dependiente de la concentración; al electrotansferir las cinco concentraciones de ceftriaxona se observa que no se inhibió el crecimiento de *H. pylori*.

Se procedió a evaluar concentraciones más altas de ceftriaxona, empleando la dosis de 1 mg/mL se obserbó que el control del antibiótico (Cftx) si inhibió significativamente a la bacteria *H. pylori*, y se observa que el agua electrotransferida al agua y el agua sin electrotransferir aplicadas sobre los cultivos, no inhibieron el crecimiento de *H. pylori*, y el punto mas importante a observar que fue la droga electrotransferida (Cftx) no inhibió significativamente el crecimiento e *H. pylori*, esto comparándolo con el control que es solo la cepa de *H. pylori* (ver Figura 8 y Tabla 3)



**Figura 8. Bioensayo de la electrotransferencia de la Ceftriaxona (1mg/mL) en *H. pylori*.**

**Tabla 3. Comparación del rendimiento celular de *H. pylori* en presencia de cetriaxona y agua con información electromagnética de la ceftriaxona.**

Tratamiento	UFC/mL
Control	Incontable
Cftx [1mg/mL]	0
Cftx e- [1mg/mL]	Incontable

### 7.3.3. Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia del ceftriaxona (1mg/mL)-H<sub>2</sub>O sobre *S. marcescens*.

Se evaluaron cinco dosis de ceftriaxona directamente, así como agua conteniendo el electrotransferido de ceftriaxona a 20, 10, 5, 2.5 y 1.25 µg/mL. Los resultados se observan en la Figura 9. Estos resultados nos indican que la inhibición de *S. marcescens* por ceftriaxona directa (barras azules) sí inhibe el cultivo, pero esta inhibición es directamente proporcional a la concentración de la ceftriaxona, es decir a mayor concentración se presenta mayor inhibición. Se observa que hay diferencia significativa entre las cinco dosis evaluadas. en las barras verdes se observa que las dosis del agua conteniendo el electrotransferido de la ceftriaxona no inhibieron el cultivo de *S. marcescens* y este tratamiento no presenta diferencia significativa con respecto al control.

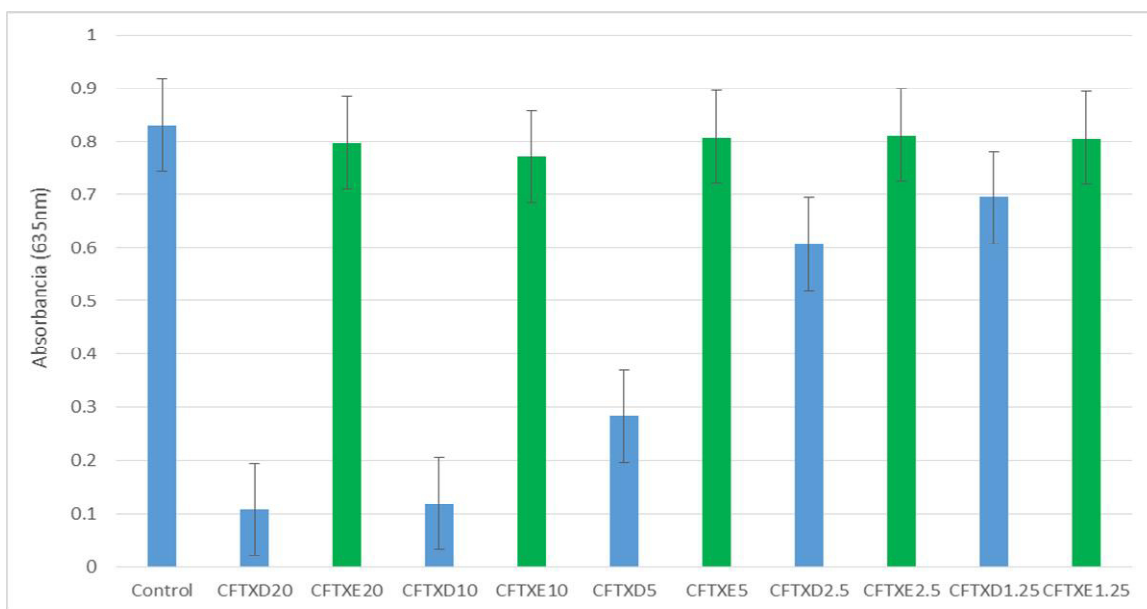


Figura 9. Bioensayo de la electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre *S. marcescens*.

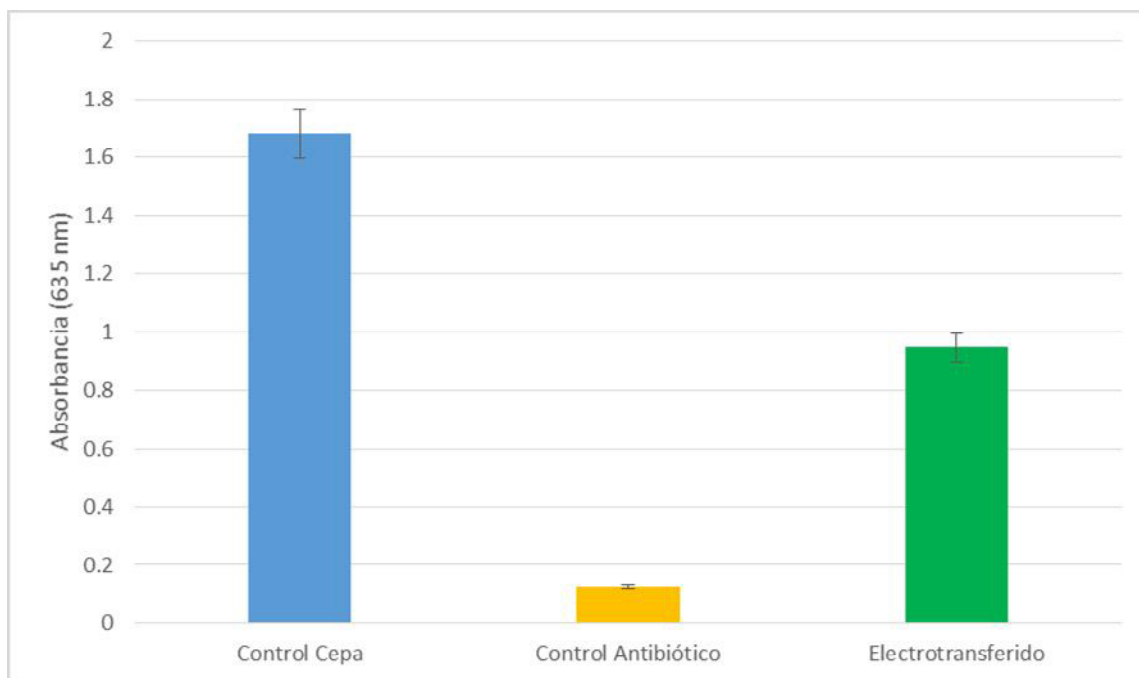
En la Tabla 4 se aprecia el rendimiento de UFC/mL de *S. marcescens* cultivada en presencia de ceftriaxona (1mg/mL) y se observa que se inhibe completamente su crecimiento. Sin embargo en el bioensayo en el cual se evaluó la actividad anti-*S. marcescens* del agua con el electrotransferido de la ceftriaxona (1 mg/mL) ésta no tuvo actividad inhibitoria sobre la bacteria, ya que al determinar la UFC/mL ( $\times 10^{12}$ ) fue incontable el rendimiento celular, por lo cual se determina que este tratamiento no tuvo actividad sobre *S. marcescens*.

**Tabla 4. Determinación de UFC/mL de *S. marcescens***

Tratamiento	UFC/mL
Control	Incontable
Cftx [1mg/mL)	0
Cftx e-	Incontable

#### **7.3.4. Evaluación de la actividad biológica de la electrotransferencia del ceftriaxona (1mg/mL)-H<sub>2</sub>O sobre *L. monocytogenes*.**

En la Figura 10 se observa los resultados de absorbancia de la evaluación de ceftriaxona (1mg/mL) sobre *L. monocytogenes*, se observa que el antibiótico evaluado directamente sobre la bacteria inhibió significativamente (barra amarilla) con respecto al control, y el agua conteniendo el electrotransferido de cetriaxona (1mg/mL) sí inhibió significativamente (barra verde) con respecto al cultivo control (barra azul). La inhibición producida por agua conteniendo el electrotransferido de ceftriaxona (1mg/mL) fue de aproximadamente el 55%.



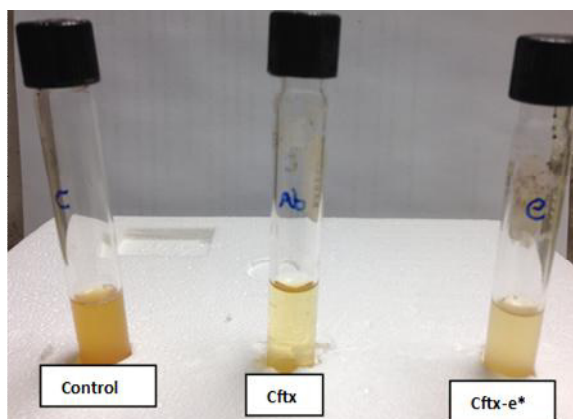
**Figura 10. Bioensayo de electrotransferencia de Cftx sobre *L. monocytogenes*.** En la barra azul se observa la absorbancia del cultivo control, en la barra amarilla se observa la inhibición por parte de la droga ceftriaxona a la dosis de 1 mg/mL, y en la barra verde se encuentra graficado el valor de la absorbancia del cultivo de *L. monocytogenes* cultivado en presencia de agua conteniendo el electrotransferido de la ceftriaxona.

En la Tabla 5 se observan las UFC/mL de *L. monocytogenes* obtenidos al ser cultivadas en presencia del agua conteniendo el electrotransferido de la ceftriaxona. Al plaquear el cultivo de la dilución  $10^{12}$  la determinación en el control fue incontable, no se obtuvieron células de *L. Monocytogenes* al ser cultivada en presencia de la droga ceftriaxona (1 mg/mL), y sí se observa disminuida la cantidad de UFC/mL al cultivar *L. monocytogenes* en presencia del agua conteniendo el electrotransferido de la ceftriaxona.

**Tabla 5. UFC/mL de la bacteria gastro-enteropatógena *L. monocytogenes***

Tratamiento	UFC/mL
Control	Incontable
Cftx [1mg/mL]	0
Cftx e-	$187.33 \times 10^{12}$

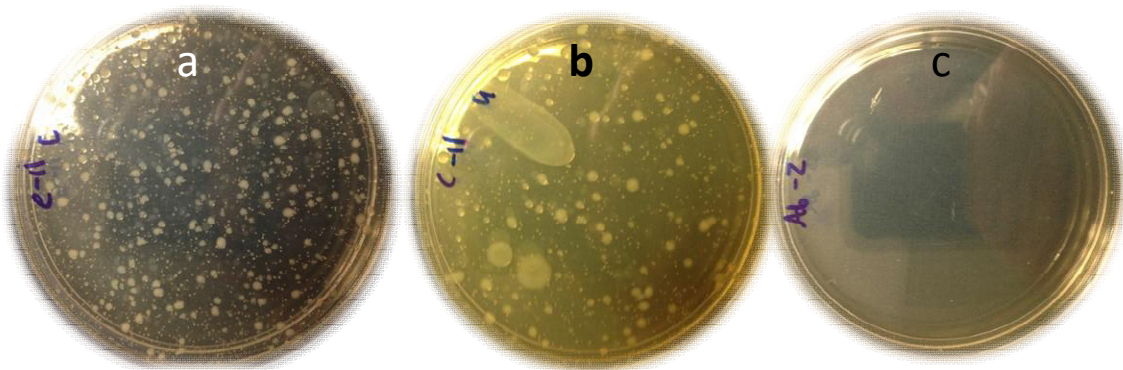
En la figura 11 se observan 3 tubos correspondientes al Bioensayo de electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre *L. monocytogenes*. A la izquierda se observa el control (solamente cepa de *L. monocytogenes*), en el centro se observa el tubo con inóculo de *L. monocytogenes* cultivado en presencia de la droga ceftriaxona (1mg/mL), en el cual se puede apreciar menos turbidez, lo cual indica que no hubo crecimiento de la bacteria, y a la derecha se observa el tubo que contenía el antibiótico electrotransferido en el cual se observa turbidez indicando algo de crecimiento, pero se observa menos turbidez que en el tubo de la izquierda el cual es el Control que contiene la cepa sola, el cual indica al tener mucha turbidez que en el Control si hubo mucho crecimiento de *L. monocytogenes*.



**Figura 11. Se observan 3 tubos de ensayo con cultivo (L.m.) del Bioensayo de electrotransferencia de la Ceftriaxona sobre *Listeria monocytogenes*.** A la izquierda se observa el control (solamente cepa de *L. monocytogenes*) con letra C, en el centro se observa el tubo con inóculo de (L.m). agregado el cual contenía el antibiótico por eso se puede apreciar más transparencia en el medio-caldo MPT lo cual indica que no hubo crecimiento de la bacteria, este tubo del centro está marcado con las letra “Ab” (Antibiótico) y a la derecha se observa el tubo que contenía el antibiótico electrotransferido en el cual se observa turbidez indicando algo de crecimiento, pero se observa menos turbidez que en el tubo de la izquierda el cual es el Control que contiene la cepa sola, el cual indica al tener mucha turbidez que en el Control si hubo mucho crecimiento de *L. monocytogenes*.

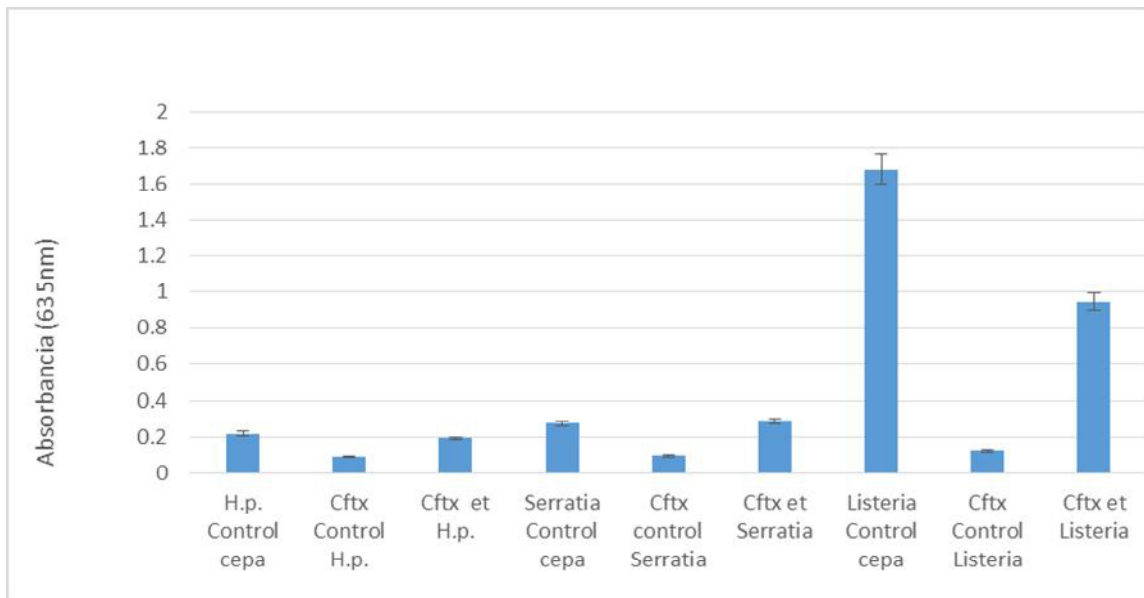


En la Figura 12 se observa el aspecto de las colonias de *L. monocytogenes* control (b, cultivada en presencia del agua conteniendo la información electromagnética de la ceftriaxona (a) y en (c) se observa el cultivo de *L. monocytogenes* en presencia de a ceftriaxona a la dosis de 1 mg/mL.



**Figura 12. Colonias de *L. monocytogenes* bajo distintos tratamientos del Bioensayo de electrotransferencia de la Ceftriaxona y su efecto sobre el crecimiento de la bacteria.** En la imagen a) se observa el electrotransferido y las colonias se pueden apreciar así como su aspecto macroscópico, en la imagen b) se observa el control (cepa sola de L.m.) y en la imagen c) se observa el tratamiento con antibiótico (Cftx) en la cual se aprecia que no hay crecimiento de ninguna colonia (0 UFC/mL).

En la Figura 13 se observa el análisis comparativo de los valores de absorbancia de cada una de las bacterias en las cuales se evaluó la droga ceftriaxona (Cftx) y el agua conteniendo la información electrotransferida de la droga ceftriaxona (Cftx-et). En el cual se puede observar que únicamente el cultivo de la bacteria *L. monocytogenes* al ser tratada con Cftx-et, presenta un valor de absorbancia menor al valor del cultivo control.



**Figura 13. Bioensayos de electrotransferencia en las 3 bacterias gastro-enteropatógenas (*H. pylori*, *S. marcescens* y *L. monocytogenes*).** En esta grafica se observa que en las bacterias *H. pylori* y *S. marcescens* no presentaron inhibición de su crecimiento por la droga electrotransferida (Cftx-et) pero *L. monocytogenes* sí mostró inhibición en su crecimiento por la droga ceftriaxona (Cftx) electrotransferida.

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo, muestran evidencia del efecto inhibitorio del crecimiento de *E. histolytica* bajo condiciones axénicas *in vitro* debido a la transferencia de información electromagnética de drogas antimicrobianas a la molécula de agua con la cual fue tratada.

El empleo de las concentraciones de 1mg/mL de las drogas electrotransferidas a través del equipo BICOM-2000 al agua para obtener el “agua energizada” a partir de drogas antimicrobianas mostraron inhibición significativa en *E. histolytica* y *Listeria monocytogenes*, teniendo inhibición del 100% en *E. histolytica* y del 56% en *L. monocytogenes*, en tanto que para *Helicobacter pylori* y *Serratia marcescens* no mostraron inhibición con el electrotransferido pero sí con el antibiótico o droga (ceftriaxona) evaluada directamente sobre los cultivos.

En diversos trabajos en los que se han empleado el equipo BICOM-2000 con el cual realizaron transferencia de información molecular de la hormona tiroxina altamente concentrada (1.25Mm) observaron que la metamorfosis de la *Rana temporaria* de estadios inmaduros puede ser altamente reducida en tiempo transfiriendo información de la hormona concentrada a un acuario en un número de pruebas paralelas (Endler et al. 1995), asimismo en un trabajo realizado transfiriendo acetato forbol miristato (PMA) transmitido por medio de una oscilación electrónica reportan la activación de neutrófilos humanos *in vitro* (Thomas et al. 1995), en un trabajo reciente reporta (Torres 2006) la capacidad del agua para almacenar en su estructura molecular oscilaciones electromagnéticas provenientes del metronidazol, las cuales fueron transferidas mediante la técnica de bioresonancia empleando el equipo BICOM-2000, el mismo autor reporta que el agua con información electromagnética a diferentes amplitudes presenta un efecto inhibitorio sobre el crecimiento axénico *in vitro* de *E. histolytica* y *Trichomonas vaginalis*, en experimentos por separado. En estos trabajos los resultados que se obtuvieron concuerdan con nuestros resultados y sugieren que las moléculas evaluadas emiten señales electromagnéticas que pueden ser transferidas al agua a través del equipo BICOM-2000.

En un estudio presentado por Del Guidice *et al*, 1988, se reporta que la información electromagnética procedente de una fuente externa es unida al agua en forma de oscilaciones electromagnéticas, posiblemente en sus agrupaciones, si vemos a la molécula de agua como un dipolo eléctrico y por otro lado en 1993 se demostró que se pueden transferir señales electromagnéticas de origen molecular vía circuito electrónico con un amplificador según Aissa et al. 1993.

Otros trabajos similares ratifican la transferencia de información, como es el caso de un estudio presentado por Kreisl en 1998, que demostró que transfiriendo la información electromagnética del ácido acético a sales inorgánicas en solución, por medio de un amplificador electrónico, las propiedades fisicoquímicas de dichas soluciones así tratadas están sujetas a cambios medibles y significativos.

Por otro lado, los resultados obtenidos en el presente estudio, demuestran el efecto de la información electromagnética de esta droga transferida al agua ante la inhibición del crecimiento celular en dichas cepas mencionadas anteriormente.

Con respecto a los resultados obtenidos en este estudio, si relacionamos los efectos que se observaron entre los diferentes tratamientos podemos notar que el efecto del electrotransferido sí inhibió a dos microorganismos: *E. histolytica* y *L. monocytogenes* lo cual concuerda con trabajos relacionados con este estudio en donde también obtienen inhibición de microorganismos como bacterias, específicamente *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los resultados obtenidos por Balderrama, 2007 en donde se realizó la electrotransferencia de liofilizados de BAL (*L. lactis*, *L. casei* y *L. acidophilus*); metronidazol y agua para analizar el efecto de los electrotransferidos sobre el crecimiento de *E. histolytica*, y se determinó que los liofilizados electrotransferidos si inhibieron el crecimiento de *E. histolytica* y el metronidazol electrotransferido al agua también presentó actividad inhibitoria sobre los parásitos.

Foletti *et al*. 2014, Basados en una extensa revisión de la literatura, y en su propia evidencia experimental, proponen que la hipótesis de que los sistemas acuosos pueden

adquirir y transmitir información de fármacos mediante circuitos resonantes, es cada vez más aceptada, en dicho trabajo evaluaron el ácido retinoico electrotransferido con un aparato de electrotransferencia sobre la línea celular de neuroblastoma (LAN-5) y obtuvieron en sus resultados que el ácido retinoico electrotransferido si inhibió el crecimiento de la línea celular LAN-5 (Células humanas de neuroblastoma).

Estos resultados abren la posibilidad de contar con alternativas menos agresivas para el tratamiento de la amibiasis en el humano. Por último, se pretende en un futuro evaluar la transferencia de información electromagnética a la molécula del agua y sus efectos en experimentos *in vivo* sobre organismos multicelulares superiores como: mamíferos, evaluando de esta forma medicamentos, antibióticos, drogas, etc. y observar las posibles reacciones que puedan presentarse.

En cuanto a *L. monocytogenes*, la cual pertenece al grupo de las bacterias Gram positivas la cual generan resistencia a la mayoría de las drogas empleadas en el mercado, mientras que la frecuencia del desarrollo de resistencia no se puede predecir, ya que esta dependerá del estrés y las condiciones de crecimiento específicas.

La droga de elección para *L. monocytogenes* es la droga ceftriaxona, Esta droga se clasifica dentro de las cefalosporinas de tercera generación que muestra una actividad significativa frente a microorganismos gram-negativos. La ceftriaxona penetra a través de la barrera hematoencefálica, lo que la hace útil en el tratamiento de la meningitis, entre otras enfermedades. Aunque su actividad frente a los organismos gram-positivos es menor que la de las cefalosporinas de primera generación, la ceftriaxona es la que tiene una mayor semi-vida plasmática, permitiendo la administración de una sola dosis al día (Perry y Schentag 2001).

La ceftriaxona es un antibiótico beta-lactámico y bactericida que inhibe la síntesis de la pared bacteriana al unirse a las proteínas ligandos de la penicilina (PBPs) que se localizan en dicha pared. Las PBPs son responsables de varios de los pasos en la síntesis de la pared y son diferentes para cada especie bacteriana, por lo que la actividad de cada uno de los antibióticos b-lactámicos depende de la capacidad de estos para acceder y unirse a dichas proteínas. En todos los casos, una vez que el antibiótico se ha unido a las

PBPs estas pierden su capacidad funcional, con lo que la bacteria pierde su capacidad para formar la pared, siendo el resultado final la lisis de la bacteria (Perry y Schentag 2001). Esta lisis se debe a las autolisinas bacterianas cuya actividad es, al parecer interferir con un inhibidor de las autolisinas. Aunque la ceftriaxona es activa frente a la mayor parte de las bacterias gram-positivas incluyendo las cepas de estafilococos las cuales son productoras de penicilinasa (Lamb HM, 2002)

Aunque desde esta perspectiva la ceftriaxona pueda parecer un tratamiento seguro y eficaz, en realidad existen reportes como los de (Wendel et al. 2002). que establece que la ceftriaxona no puede ser tomada durante el embarazo y lactancia ya que representa un riesgo al barrer con la microbiota natural del organismo tanto de la madre como la del producto, dando paso a infecciones por microorganismos oportunistas, además también existen evidencias de eventos adversos a esta droga como los reportados por Nicholls 1980 y Petz 1978, que describen casos de hipersensibilidad a la penicilina y ceftriaxona por ser moléculas químicamente similares por lo que visto de esta manera el uso de las drogas electrotransferidas al agua podría ser otro camino a seguir para combatir a *L. monocytogenes*, ya que como se muestra en la Figura 13, la ceftriaxona electrotransferida al agua inhibió la absorbancia del cultivo de *L. monocytogenes* y este resultado sí muestra diferencia significativa con respecto al control.

De los resultados obtenidos se puede resumir en que el agua con información electromagnética de las drogas electrotransferidas (metronidazol y ceftriaxona) presentó un efecto inhibitorio en el crecimiento de *Entamoeba histolytica* y en *Listeria monocytogenes in vitro* lo cual resultó parecido a lo obtenido en el experimento al evaluar el Control positivo que fue la droga antimicrobiana la cual sí inhibió a los microorganismos tratados, esto sugiere que el electrotransferido actuó como si fuera el antibiótico y que si se realizó la electrotransferencia de las propiedades de las drogas antimicrobianas.

## 9. CONCLUSIONES

- Mediante la técnica de Bioresonancia la molécula de agua presentó la capacidad para almacenar en su estructura molecular oscilaciones electromagnéticas provenientes del metronidazol y de la ceftriaxona, y se demostró que las muestras de agua con dichas oscilaciones electromagnéticas mimetizan el efecto antibiótico de las drogas utilizadas.
- El agua con información electromagnética de las drogas electrotransferidas (metronidazol y ceftriaxona) presentó un efecto inhibitorio del 100% en el crecimiento de *Entamoeba histolytica* y de un 56% en *Listeria monocytogenes*.

## 10. PERSPECTIVAS

La capacidad que mostró tanto la droga metronidazol electrotransferida al agua para inhibir *E. histolytica* era un resultado ya esperado pero a dosis menores a la empleada en este trabajo, con el resultado obtenido se corroboró o se reprodujo este evento reportado por otros autores como Torres 2006; sin embargo en el caso del resultado obtenido para *L. monocytogenes* es muy trascendente, debido a la dificultad de contar con una droga de largo periodo de activación y que tenga la capacidad de internarse al citoplasma celular para poder alcanzar la célula objetivo, en este caso *L. monocytogenes*, debido a que esta bacteria es muy resistente a las drogas precisamente a la capacidad de internarse al interior de la célula vía transporte endocítico y posterior liberación empleando las listericinas y seguido de la dispersión e invasión de la célula; sin duda son mecanismos complejos, que representan áreas de interés para los microbiólogos. Sin embargo, la capacidad invasiva al interior de la célula es debido a que las drogas con actividad anti-*L. monocytogenes* tienen mecanismos de acción que por su misma naturaleza bioquímica conllevan mayor tiempo para alcanzar a *L. monocytogenes*, sin embargo el agua conteniendo el electrotransferido de la droga, podría tener mejor oportunidad de atacar a esta *L. monocytogenes*, ya que el agua conteniendo el electrotransferido de la droga podría entrar a la célula a través de las acuaporinas, sin embargo será necesario realizar más estudios desde la perspectiva de la biología células de la célula invadida y la célula invasora para poder elucidar mejores mecanismos de acción.

Los resultados aquí obtenidos podrán ser evaluados *in vivo* sobre organismos multicelulares superiores como mamíferos, probando de esta forma medicamentos, antibióticos, drogas, etc. y observar las posibles reacciones que puedan presentarse y el modo de acción.



## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Abrante L., Ryes N., García M., Suárez P., Romero R., Michelangeli F., Contreras M. 2012. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* por PCR en jugo gástrico y biopsias gastroesofágicas de pacientes disépticos. *Investigación Clínica* 53 (2): 168-177
- Adey, W.R. 1988. Physiological signalling across cell membranes and cooperative influences of extremely low frequency electromagnetic fields. In: *Biological Coherence and Response to External Stimuli* (H. Frohlich, ed.) Springer-Verlag, Berlin pp 148
- Aissa J., Litime M.H., Attias E., Allal A., Benveniste J., 1993. Transfer of molecular signals via electronic circuitry FASEB 7: A 602.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D. 1989 *Molecular Biology of the Cell*. 2nd edition. Garland Publ., New York pp. 254-257.
- Albrecht-Buehler, G. 1991 Surface extension of 3T3 cells towards distant infrared light sources. *J. Cell. Biol.* 114: 493.
- Barrón-González, M.P., Serrano Vázquez G.C, Villa Vallarta M.R. 2008. Inhibición del crecimiento axénico *in vitro* *Entamoeba histolytica* por acción de probióticos, *Revista Ciencia- UANL*, Vol. **11**, No.3
- Bassett, C.A.L., Pawluk, R.J., Pilla, A.A. 1974 Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields. *Science* 184: 575.
- Bayona M., 2013. Condiciones microbiológicas para el cultivo de *Helicobacter pylori*. *Revista Colombiana de Gastroenterología* 28 (2): 94-99.
- Bazzoli F. 2001. Key points from the revised Maastrich consensus Report: the impact general practice. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 13: S3-S7.

- Benveniste J. 1994. "Activation of human neutrophils by electronically transmitted phorbol-myristate acetate". FASEB Journal 8: A398.
- Benveniste J., J. Aissa, D. Guillonnet 1999. The molecular signal is not functional in the absence of "informed water". FASEB Journal 13:A163
- Berthelot P, Grattard F, Amerger C, *et al.* (1999) Investigation of a nosocomial outbreak due to *Serratia marcescens* in a maternity hospital. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 20:233.
- Binhi V.N., 1998. Structural defects of liquid water in magnetic and electric fields. Biomedical Radioelectronics, (2):7-16.
- Bistolfi, F. 1989 Radiazioni Non Ionizzanti, Ordine, Disordine e Biostrutture. Edizioni Minerva Medica, Torino. 1 edición. pp: 419- 423.
- Blanchard T., Nedrud J. 2012. Laboratory maintenance of *Helicobacter* species. Current Protocols in microbiology. Suppl. 24,23p.
- Byus, C.V., Lundak, R.L., Fletcher, R.M., Sadey, W.R. 1984 Alterations in protein kinase activity following exposure of cultured lymphocytes to modulated microwave fields. Bioelectromagnetics 5: 34.
- Cadossi, R., Bersani, F., Cossarizza, A., Zucchini, P., Emilia, G., Torelli, G., Franceschi, C. 1992 Lymphocytes and low-frequency electromagnetic fields. FASEB J. 6: 2667.
- Cammarota G., Sanguinetti M. Gallo A., Posteraro B. 2012. Biofilm formation by *Helicobacter pylori* as a target for eradication of resistant infection. Aliment. Pharmacology Therapy. 36 (3): 222-230.
- Cameron I.L., Kanal K.M., Keener C.R y G.D 1997. Fullerton, A mechanistic view of the non-ideal osmotic and motional behavior of intracellular water, cell biol. Int. 21:99-113.

- Carreda-Bravo T., 1989. La amibiasis invasora como problema de salud pública. Biol. Med. Hosp. Infant. Mex; 46:139-148.
- Carron M.A., Tran V.R., Sugawa C., Coticchia J.M. 2006. Identification of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa. Journal of Gastrointestinal Surgery. 10 (5):712-717
- CDC, 2012. Centros para el control y prevención de enfermedades. Centro Nacional para las enfermedades infecciosas y zoonóticas. División de enfermedades transmitidas por comida agua o ambiente. Página revisada y modificada: 12 Julio 2012, <http://www.cdc.gov>7 (Consultado el 23 de Agosto de 2016)
- Cellini L., Grande R., Artese L., Marzio L. 2010. Detection of *Helicobacter pylori* in saliva and esophagus. New Microbiology. 33 (4): 351-357
- Cervantes García, 2006. Estrella. *Helicobacter pylori* e infecciones asociadas. Monografía. U.N.AM.
- Chacín Bonilla L. 2012. Farmacoterapia actual de la amibiasis, avances en nuevas drogas y diseño de una vacuna. Invest. clín 53(3): 301-314.
- Chaplin M.F. 2000. A proposal for the structuring of water, Biophys. Chem. 83 211-221.
- Chiabrera, A., Grattarola, M., Parodi, G., Marcer, M. 1984 Interazione tra campo elettromagnetico e cellule. Le Scienze (Italian edition of Sci. Am.) 192: 78.
- Conti, P., Gigante, G., Cifone, M.G., Alesse, E., Ianni, G.F., Reale M., Angeletti, P.U. 1983 Reduced mitogenic stimulation of human lymphocytes by extremely low frequency electromagnetic fields. FEBS Lett. 162: 156.
- Cossarizza, A., Monti, D., Bersani, F., Cantini, M., Cadossi, R., Sacchi, A., Franceschi, C. 1989 Extremely low frequency pulsed electromagnetic fields increase cell proliferation in lymphocytes from young and aged subjects. Biochem. Biophys. Res. Commun. 160: 692.

- Del Giudice E., Preparata G. and Vittiello G., 1988. Water was a free electric dipole laser. *Physical Reviews Letter* 61:1085-1088.
- Dore J.C., 1991. Structural studies of water and other hydrogen bonded liquids by neutron diffraction. *J Mol. Struct.* 250 193-211.
- Dosii C., Escalona U., Serrano A., Silva D., Juliet L., Fernández V., Leiva C., Fernández O. (2002). *Serratia marcescens*: Descripción de un brote de infección intrahospitalaria. *Revista chilena de infectología*, 19(4), 262-266.
- Dussurget O., Cabanes D., Dehoux P., Lecuit M., Buchrieser C. Glaser P. & Cossart P., 2002. *Listeria monocytogenes* bite salt hydrolase is a prfa-regulated virulence factor involved in the intestinal and hepatic phases of listeriosis. *Mol. Microbiol.* 45: 1095-1106.
- Endler P.C., M. Citro, W. Pongratz, C.W. Smith, C. Vinattieri, F. Senekowitsh. 1995. The effect of highly diluted agitated thyroxine of the climbing activity of frogs. *Veterinary and human toxicology. Acta Médica Empírica.* vol 44. edición N° 3. pp: 36: 56-59.
- FDA website. 2007. Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook.  
CjwKEAjwjQO\_BRDribyJpc\_mzHgSJABdnsFWcfg3U91X\_byazF9xfnctKSYFz  
Q7z3dCHWDknzFjgHhoCWKHw\_wcB (Accesed August 2008)
- Fesenko E.E. and Gluvstein A. Ya. 1995. Changes in the state of water, induced by radio-frequency electromagnetic fields. *FEBS letters*, 367:53.
- Fisher, LC, III, and Adkins, J. (2002) Acute osteomyelitis from *Serratia marcescens*: report of unusual case; A rapid and easy PCR-RFLP method for genotyping *Serratia marcescens* strains isolated from humans CrossRef . Web of Science Medline.
- Foletti A., Grimaldi S., Lisi A. Ledda M. and Liboff R. (2013) Bioelectromagnetic medicine. The role of resonance signaling. *Electromagn. Biol. Med.* 32(4): 489-99

- Frasser AG, Sim R, Sankey EA, Dhillon AP, Pounder RE 1994. Effect of eradication on *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cell proliferation. *Aliment Pharmacol Ther*; 8: 167-173.
- Frohlich, H. 1988 *Biological Coherence and Response to External Stimuli*. Springer-Verlag, Berlin.
- Galar-Castelan I. 1988 *electricidad y magnetismo*- Editorial LIMUSA- Primera edición pp 222-230.
- Garza González E., Pérez-Pérez G.I., Maldonado-Garza H.J., Bosques-Padilla F.J. 2014. A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment and methods to detect eradication. *World Journal of Gastroenterology*. 20 (6): 1438-1449.
- Graham D.Y., Adam E. Reddy G.T., Agarwal J.P., Evans D.J., Malaty H.M. 1991. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India Comparison of developing and developed countries. *Digestive diseases and Sciences*. 36:1084-1088
- Haddy R.I., Mann B.L. Nadkarni D.D. Cruz R.F., Elshoff D.J., Buendia F.C., Domers T.A. Oberheuer A.M. 1996. Nosocomial infections in the community hospital: severe infection due to *Serratia* species. *The journal of Family Practice*, 42 (3): 273-277.
- Hameroff, S.R. 1988 Coherence in the cytoskeleton: Implications for biological information processing. In: *Biological Coherence and Response to External Stimuli* (H. Frohlich, ed.). Springer-Verlag, Berlin, pp. 242.
- Hasted, J.B. 1988 Metastable states of biopolymers. In: *Biological Coherence and Response to External Stimuli* (H. Frohlich, ed.). Springer-Verlag, Berlin, pp. 102.
- Hejazi A., Falkner F.R. (1997). *Serratia marcescens*. Department of Clinical Microbiology. *J. Med. Microbiol.* - Vol. 46, 903-912

- Holcombe C., Omotara B.A., Eldridge J., Jones D.M. 1992. *Helicobacter pylori*, the most common bacteria infection in Africa. A random serological study. American Journal of Gastroenterology. 87:28-30
- Jones D.M., Curry A., Fox A.J. 1985. An ultrastructural study of the gastric Campylobacter-like organism "*Campylobacter pyloridis*". Journal of General Microbiology. 131:2335-41
- Joo J., Park K., Song J., Kim Dk, Lee K., Kwon Y., Kim J., Kim K., Youn H. Kang H., Baik S., Lee W., Cho M., Rhee K. 2010. Thin-layer liquid culture technique for the growth of *Helicobacter pylori* . Helicobacter. 15 (4): 295-302.
- Kell, D.B. 1988 Coherent properties of energy-coupling membrane systems. In: Biological Coherence and Response to External Stimuli (E. Frohlich, ed.). Springer Verlag, Berlin, pp. 233.
- Kreisl P. 1998. Tests on the transduction of acetic information via an electronic amplifier. Acta medica empirica. vol. 44. edición N° 3 pp: 17-24.
- Kremer, F., Santo, L., Poglitsch, A., Koschnitzke, C., Behrens, H., Genzel, L. (1988) The influence of low-intensity millimeter waves on biological systems. In: Biological Coherence and Response to External Stimuli (H. Frohlich, ed.). Springer-Verlag, Berlin, pp. 86.
- Kroy, W. 1989. The use of optical radiation for stimulation therapy. In: Electromagnetic Bio-Information (Popp, F.A. et al., eds.). Urban & Schwarzenberg, Munchen, pp. 200.
- Lara L.F., Cisneros G., Gurney M., 2003. One-day quadruple therapy compared with 7-day triple therapy for *Helicobacter pylori* infection. Archives of Journal of Medicine; 163: 2079-2084.
- Lamb HM., Ormrod D., Scott LJ., M Figgitt DP., 2002 Ceftriaxone: An update of its Use in the management of Community-Acquired and Nosocomial Infections. Drugs. 62 (7): 1041-1090.

- Legator M.S., Connor T.H. and Stoeckel M., 1975. Detection of mutagenic activity of metronidazole and niridazole in body fluids of human and mice. *Science*, 188:1118-1119.
- Lin J.C. 1994 Advances in electromagnetic fields in living systems. Plenum Press., New York. pp 16, 17,130,149.
- López J. 2004. *Listeria monocytogenes*. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (mamíferos, aves y abejas). Organización Mundial de Sanidad Animal. París Francia 1:1222-1335.
- Liu, D.S., Astumian, R.D., Tsong, T.Y. 1990 Activation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> pumping modes of (Na-K) ATPase by an oscillating electric field. *J. Biol. Chem.* 265: 7260.
- Lobyshev V.I., Ryzhikov B.D. and Shikhilinskaya R.E., 1995. The peculiarities of water luminiscence stipulated by the polymorphism of its structure. *Vestnik MVS, Serres physics and Astronomy*, 36(2):48.
- López-Brea M, Martin E, Lopez-Lavid C. 1991 Susceptibility of *Helicobacter pylori* to metronidazole. *Eur J Clin Microbiol Infec Dis*; 10:1082-1083.
- López J. 2004. *Listeria monocytogenes*. Manual e las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animals terrestres (mamíferos, aves y abejas) Organización Mundial de Sanidad Animal. París, Francia 1: 1222-1335.
- Luben, R.A., Cain, C.D., Chen, M.Y., Rosen, D.M., Adey, W.R. 1982 Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cells in vitro: inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy, low-frequency fields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 4180.
- Lykkegaard-Nielsen N, Jutesen T. 1977. Excretion of metronidazole in human bile. Investigation of hepatic bile, common duct bile and gallbladder bile. *Scand. J. Gastroenterol.* 12: 1002-8.

- Lynch E.C., Rosenberg M.I. and Gitler C., 1982. An ion channel forming protein produced by *E. histolytica*. EMBO J.1:801-804
- Mahajan RC, Chitkara NL, Vinayak VK 1974. *In vitro* comparative evaluation of tinidazole and metronidazole strains of *Entamoeba histolytica*. Indian J Pathol Bacteriol; 17: 226-228.
- Marshall B.J. 2002. The discovery that *Helicobacter pylori*, a spiral bacterium, caused peptic ulcer disease. In: Marshal B. Editor. Helicobacter Pioneers (Firsthand account from the scientists who discovered helicobacters. (1892-1982) Blackwell Science Asia p. 165-202
- Marshall W.F., Blair J.E. (1999). The cephalosporins. Mayo Clin. Proc. 74:187-195
- Moore RA, Beckthold B, Bryan LE 1995. Metronidazole uptake in *Helicobacter pylori*. Can J Microbiol; 41: 746-749.
- Müller M. 1983. Mode of action of metronidazole on aerobic bacteria and protozoa. Surgery; 93: 165-71.
- Nocholls PJ. 1980. Neurotoxicity of Penicilines. J Antimicrob Chemother. 6: 161-72.
- Orozco-Orozco, M.E. 1999. Un camino hacia la vacuna contra la amibiasis. Cuarta reunión de expertos en amibiasis. SEARLE, Primera Edición 57-65.
- Padilla-Raygoza N., 1999. Amibiasis en edad pediátrica, Cuarta Reunión de Expertos en amibiasis. SEARLE, Primera Edición 47-55.
- Pajares J.M., y Gisbert J.P. 2006. *Helicobacter pylori*: its discovery and relevance for medicine. Rev. Esp. Enferm. Dig. Vol. 98 (no. 10). Madrid.
- Parker, S.P. 1993 Encyclopedia of Physics. Second edition. McGraw-Hill., pp 337-339, 1215.



- Pauling L. 1948 The nature of the chemical bond, 2<sup>nd</sup> ed. Cornell university press, New York, pp. 163-169.
- Perry T.R., Schentag J.J. 2001. Clinical use of Ceftriaxone: A Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Perspective on the Impact of Minimum Inhibitory Concentration and Serum Protein Binding. Clinical Pharmacokinetics. Vol. 40 Issue 9, p (685-695)
- Pool, R. 1990 Is there an EMF-cancer connection? Science 249: 1096.
- Popp, F.A. 1985 Nuovi Orizzonti in Medicina. La teoria dei Biofotoni. IPSA Editore, Palermo.
- Popp, F.A., Warnke, U., Konig, H.L., Peschla, W. 1989 (editors) Electromagnetic Bio-information. Urban and Schwarzenberg, Munchen. 1 edicion pp. 246-254.
- Pothakamury U.R., Barletta B.J., Barbosa G.V. y Swanson B.G. 1993 inactivación de microorganismos en alimentos usando campos magnéticos oscilantes- Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos., 33: 479-489.
- Powell SJ, McLeod I, Wilmonett AJ, Elsdon-Drew R 1966. Metronidazole in amoebic dysentery and hepatic liver abscess. Lancet; 2: 1329-1331.
- Pueyo A.M., Huarte M.P., Jiménez C., 1998. Epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*. Analisis Sis San Navarra 21 (2): 9-17.
- Reinhold D. Will. 1998 Bioresonance therapy. 1 Edition Jopp Verlag. pp. 17.
- Rocourt J. & Billie J., 1997. Foodborne listeriosis. World Health Stat Q. 50(1-2):67 – 63.
- Royer W. 1996. Ordered water molecules as key alosteric mediators in a cooperative dimeric hemoglobin. PNAS. 10; 93(25): 14526–14531
- Samarawickream N. A., Brown D.M., Upcroft J.A., Thammapalerd N. and Upcroft P., 1997. Involvement of superoxide dismutase and pyruvate: ferredoxin

oxidoreductase in mechanisms of metronidazole resistance in *Entamoeba histolytica*. J. Antimicrob. Chemother. 40:833-40

Samra-Vázquez José, Soto Ramón, Alger-Pineda Jacqueline, 2000. Estudio comparativo de la eficacia y seguridad del albendazol versus metronidazol en el tratamiento de la giardiasis infantil en el Hospital Escuela, Tegucigalpa. Rev Med Post UNAH. 5(3):254-261.

Samuelson J 1999. Why metronidazole is active against both bacteria and parasites. Antimicrob Agents Chemother; 43: 1533-41.

Sanjuro J.L., Pérez J., Hidalgo H., Geyne A. 1999. Eficacia y seguridad entre diferentes dosis de nitazoxanida + subcitrate de bismuto + lanzoprazol para la erradicación de *Helicobacter pylori*. Revista Médica del Hospital General de México. 14:172-175.

Schlech W.F., Lavigne P.M., Bortolussi R.A., Allen A.C., Haldane E.V., Wort A.J., Hightower A.W., Johnson S.E., King S., Nicholls E.S. & Broome C.V. 1983. Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. N. Engl. J. Med. 318: 203-206.

Servranx F. 1994. Los circuitos oscilantes. Editorial Sevrans, Edición n°7. Pp (3-4)

Shaya, S.Y., Smith, C.W. 1977 The effects of magnetic and radiofrequency fields on the activity of lysozyme. Collective Phenomena 2: 215.

Siavoshi F., Saniee P., Atabakhsh M. Pedramnia S. Tavakolian A., Mirzaei M. 2012. Mucoid *Helicobacter pylori* isolates with fast growth under microaerobic and aerobic conditions. Helicobacter. 17:62-67

Sinitsyn N.I., Petrosyan V.L., Yolkin V.A., Devyatkov N.D., Gulyaev Yu. V. and Betskii O.V., 1998. Particular role of a MM wave-water médium system in the nature. Biomedical Radioelectronics, (1):5-53.

- Smith C.W. 1990 Homeopathy, structure and coherence. In: Homeopathy in Focus. VGM Verlag fur Ganzheitsmedizin, Essen, pp. 96.
- Smith, C.W. 1989 Coherent electromagnetic fields and bio-communication. In: Electromagnetic Bio-Information (Popp, F.A. eds.). Urban and Swarzenberg, Munchen, pp. 1.
- Smith, C.W. 1994 Electromagnetic and magnetic vector potential bio-information and water. In: Ultra High Dilution (P.C. Endler and J. Schulte, eds.). Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, pp. 187.
- Smith, C.W., Choy, R., Monro, J.A. 1985 Water - friend or foe? Lab. Pract. 34: 29.
- Souto R., Vieira A.P. 2008. Detection of *Helicobacter pylori* by polymerase chain reaction in the subgingival biofilm and saliva of non-dyspeptic periodontal patients. Journal of Periodontology. 79 (1):97-103
- Stevenson T., Lucia L. Acuff G. 2003. Development of a selective medium for isolation of *Helicobacter pylori* from cattle and beed samples. Applied and Environmental Microbiology 66: 723-727.
- Stewart J.R. 1979 The electrostatic and electromagnetic effects of A.C. transmission lines. IEEE., pp 4-10.
- Strother G.K. 1980 Física aplicada a las ciencias de la salud. McGraw Hill. Primera edición, pp. 312.
- Suresh S.J. & V.M. Naik 2000. Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data, J. Chem. Phys. 113 9727-9732.
- Thomas Y., M. Schiff, L. Belkadi, P. Jurgens, L. Kahhak, J. Benveniste. 1995. Direct transmission to cells of a molecular signal (phorbol myristate acetate, PMA) via an electronic device. FASEB J. 9:A227.

- Torres-Flores A. C. (2006). Capacidad de la molécula de agua para almacenar oscilaciones electromagnéticas de metronidazole y su efecto en el crecimiento de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis in vitro* mediante la técnica de bioresonancia. Tesis de Licenciatura, F.C.B. U.A.N.L.
- Torres J. 1998. A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in México. The Journal of Infectious Diseases. 178: 1089-1094.
- Tsong, T.Y. 1989 Deciphering the language of cells. Trends Biochem. Sci. 14: 89.
- Visapää JP, Tillonen JS, Kaihovaara PS, Salaspuro MP. 2002. Lack of disulfiram-like reaction with metronidazole and ethanol. Ann Pharmacother. 36(6):971-4.
- Walleczek, J. 1992 Electromagnetic effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. FASEB J. 6: 3177.
- Walleczek, J., Liburdy, R.P. 1990 Nonthermal 60-Hz sinusoidal magnetic-field exposure enhances  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  uptake in rat thymocytes: dependence on mitogen activation. FEBS Lett. 271: 157.
- Weaver, J.C., Astumian, R.D. 1990. The response of living cells to very weak electric fields: the thermal noise limit. Science 247: 459.
- Wendel GD, Astumian RD. 1990. The response of living cells to very weak electric fields: the thermal noise limit. Science 247:459
- WHO News and activities. Bulletin of the World Health Organization. 75 (3):22291-292, (2003).
- Wiggins P.M., 1997. Hydrofobic hidration, hydrofobic forces and protein folding. Physica A. 238: 113-128.
- Williams E, Okoye R, Ollier B, Festenstein H. 1983. A simple box method for freezing lymphocytes. J Immunol Methods. Dec 16: 65(1-2):265-8.
- Wood R. 1991. Magnetismo: de la brujula a lo

- Yoshiki S. 2003. Application of the independent molecule model to the calculation of free energy and rigid-body motions of water hexamers, J.Mol.Graph. Model 21:487-498.
- Yost M.G., Liburdy, R.P. 1992 Time-varying and static magnetic fields act in combination to alter calcium signal transduction in the lymphocyte. FEBS Lett. 296: 117.
- Yu W.L., Lin C.W., Wang D.Y. 1998. *Serratia marcescens* bacteremia: clinical feature and antimicrobial susceptibilities of the isolates. Journal of microbiology and immunology infections, 31(3): 171-179
- Zullo A., Vaira D., Vakil N. 2003. High eradication rates of *Helicobacter pylori* with a new sequential treatment. Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 17:719-726.

## ANEXO 1

### TERMINOLOGÍA

**Bioresonancia:** Es la aplicación del fenómeno de resonancia física al área del sistema biológico.

**Biofísica de la molécula del agua:** En los modelos tradicionales, el agua está formada por un conjunto altamente entrópico de moléculas de agua, polares, que solo forman efímeros puentes de hidrógeno por no más de unos picosegundos. Sin embargo se sabe que la tasa instantánea de agrupamiento es mayor al 95% a 0°C y alrededor del 85% a 100°C .

**Clusters:** Redes esféricas icosaédricas, la mayoría de 280 moléculas, que se descomponen principalmente en partes tetraédricas u otros prismas formados de conjuntos de 4, 5 y 6 moléculas, propiciadas por la cooperatividad de enlazamiento.

**Funciones de los clusters:** Estas estructuras juegan un papel importante en la regulación celular ya que se ha encontrado agua estructurada en la cercanía de partes hidrofóbicas de la célula incluyendo membranas y proteínas, donde el agua es de baja intensidad con más fuertes puentes de hidrógeno y menos entropía.

Este hecho hace suponer que las agrupaciones de moléculas de agua pueden desempeñar diversas funciones regulatorias e intermediarias a nivel molecular, así como de mediadores alostéricos, y de transmisión de señales, ampliando el modelo tradicional de interacción directa entre las estructuras de las moléculas que interactúan (ejemplo: relación antígeno-anticuerpo).

**LASER:** Las moléculas de agua forman un sistema coherente de comunicación (LASER) debido a su estructura bipolar. Por lo tanto, puede ocurrir una polarización de las moléculas de agua como resultado de la bioinformación electromagnética.

**Resonancia:** Cuando un sistema mecánico o acústico es excitado por una fuerza periódica externa la cual iguala la frecuencia natural de oscilación del sistema, la amplitud de la oscilación se vuelve con mayor y entonces el sistema se dice que ha entrado en estado de resonancia.

**Transmisión de información:** Algunos autores proponen que se puede transmitir la información proveniente de moléculas encargadas de llevar mensajes, como antígenos, hormonas, e incluso ciertos medicamentos, por medios electrónicos; es decir, hacer oscilar el agua con frecuencias y patrones provenientes de otras sustancias usando radiofrecuencias como medio.

## RESÚMEN BIOGRÁFICO

Omar Heredia Rodríguez

Candidato para el grado de

Maestro en Ciencias con Especialidad en Microbiología

Tesis: Evaluación de la actividad inhibitoria de drogas electrotransferidas sobre

*Entamoeba histolytica*, *Helicobacter pylori*, *Serratia marcescens* y *Listeria monocytogenes*

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 13 de Enero de 1990, Hijo de Jose Antonio Heredia Rojas y Laura Ernestina Rodríguez Flores

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Químico Bacteriólogo Parasitólogo en 2012 con mención honorífica.

Experiencia Profesional: Área de calidad e inspección en empresa Plásticos Profesionales S.A. de C.V. Docencia e Investigación en la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L.